

Gdański Uniwersytet Medyczny



Agnieszka Katarzyna Brandt

**Poziom leptyny w surowicy krwi w połączeniu z przebiegiem klinicznym
i ryzykiem rozwoju późnych powikłań u dzieci
z rozpoznaniem cukrzycy typu 1.**

Rozprawa doktorska

Promotor: Dr hab. med. Małgorzata Myśliwiec

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii

GDAŃSK 2011

Wyrażam ogromną wdzięczność Promotorowi Pracy *Pani dr hab. med. Małgorzacie Myśliwiec*, za wszechstronną pomoc, za stworzenie warunków do pracy klinicznej i naukowej oraz za pomoc merytoryczną, wyrozumiałość i życzliwość okazywaną podczas pisania pracy.

Pani Profesor dr hab. med. Annie Balcerskiej, kierownikowi Katedry i Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za przekazywanie mi wszechstronnej wiedzy pediatrycznej oraz okazaną życzliwość.

Pani Profesor dr hab. med. Jolancie Myśliwskiej, kierownikowi Katedry Immunologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego oraz *Pani dr med. Katarzynie Zorenie* za cenną pomoc naukową i umożliwienie przeprowadzenie badań immunologicznych w Zakładzie Immunologii.

Pani Profesor dr hab. med. Krystynie Raczyńskiej, kierownikowi Katedry i Kliniki Chorób Oczu Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za okulistyczną ocenę pacjentów.

Moim koleżankom i kolegom z Oddziału Diabetologii Dziecięcej za okazaną życzliwość podczas pisania pracy.

Pracownikom Zakładu Immunologii, szczególnie *Ewie Malinowskiej* i *Karolinie Rybarczyk* za pomoc w realizacji doświadczalnej części pracy.

Moim Rodzicom i Braciom za wszechstronne wsparcie i cierpliwość.

Wszystkim Osobom Niewymienionym tu z Imienia, których wiedza i życzliwa pomoc przyczyniła się do powstania pracy.

SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY.....	3
I. WSTĘP	6
I.1. WPROWADZENIE.....	6
I.2. EPIDEMIOLOGIA	6
I.3. ETIOPATOGENEZA CUKRZYCY TYPU 1.....	9
I.3.1. CZYNNIKI GENETYCZNE.....	9
I.3.2. CZYNNIKI ŚRODOWISKOWE	10
I.3.3. REAKCJA AUTOIMMUNOLOGICZNA	11
I.4. NOWE ROZPOZNANIE CUKRZYCY TYPU 1.....	15
I.5. PRZEBIEG KLINICZNY CUKRZYCY TYPU 1.....	16
I.6. PÓŹNE POWIKŁANIA CUKRZYCY	17
I.6.1. RETINOPATIA CUKRZYCOWA	17
I.6.2. NEFROPATIA CUKRZYCOWA	21
I.7. ADIPOCYTOKINY	24
I.7.1. LEPTYNA.....	24
I.7.2. ADIPONEKTYNA	30
II. CEL PRACY.....	34
III. MATERIAŁ I METODY	35
III.1. MATERIAŁ	35
III.1.1. GRUPA BADANA	35
III.1.2. MATERIAŁY JEDNORAZOWEGO UŻYTKU.....	36
III.1.3. APARATURA	37
III.2. METODY.....	37
III.2.1. BADANIE PODMIOTOWE I PRZEDMIOTOWE (DANE KLINICZNE)	37
III.2.2. BADANIA BIOCHEMICZNE	38
III.2.3. BADANIE OKULISTYCZNE.....	39
III.2.4. BADANIA IMMUNOLOGICZNE W KIERUNKU CHOROBY TRZEWNEJ I AUTOIMMUNOLOGICZNEGO ZAPALENIA TARCZYCY	39
III.2.5. UZYSKIWANIE MATERIAŁU BIOLOGICZNEGO	40
III.2.6. TESTY IMMUNOENZYMATYCZNE ELISA W SUROWICY: LEPTYNA I ADIPONEKTYNA	41
III.2.6.1. LEPTYNA.....	42
III.2.6.2. ADIPONEKTYNA.....	42
III.2.7. METODY STATYSTYCZNE	43
IV. WYNIKI.....	44
IV.1. PARAMETRY KLINICZNE I BIOCHEMICZNE U DZIECI Z CUKRZYCĄ TYPU 1 ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ.....	44
IV.1.1. CHARAKTERYSTYKA KLINICZNA I BIOCHEMICZNA DZIECI Z CUKRZYCĄ TYPU 1 ORAZ GRUPY KONTROLNEJ.....	44
IV.1.2. POZIOM LEPTYNY I ADIPONEKTYNY W GRUPIE DZIECI Z NOWO ROZPOZNANĄ CUKRZYCĄ TYPU 1, Z DŁUGOTRWAŁĄ CUKRZYCĄ TYPU 1 ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ	50

IV.2. CHARAKTERYSTYKA KLINICZNA I BIOCHEMICZNA PACJENTÓW Z NOWO ROZPOZNANĄ CUKRZYCĄ TYPU 1.....	54
IV.2.1. PARAMETRY KLINICZNE I BIOCHEMICZNE U PACJENTÓW Z NOWO ROZPOZNANĄ CUKRZYCĄ TYPU 1 I W GRUPIE KONTROLNEJ.....	54
IV.2.2. PARAMETRY KLINICZNE I BIOCHEMICZNE U PACJENTÓW Z NOWO ROZPOZNANĄ CUKRZYCĄ TYPU 1 W ZALEŻNOŚCI OD STOPNIA ZABURZEŃ RÓWNOWAGI KWASOWO-ZASADOWEJ W MOMENCIE ROZPOZNANIA CHOROBY.....	55
IV.3. KORELACJE POMIĘDZY LEPTYNĄ I ADIPONEKTYNĄ A PARAMETRAMI KLINICZNYMI I BIOCHEMICZNYMI	58
IV.3.1. ANALIZA KORELACJI LEPTYNY Z PARAMETRAMI KLINICZNYMI I BIOCHEMICZNYMI U DZIECI Z NOWO ROZPOZNANĄ CUKRZYCĄ TYPU 1, Z DŁUGOTRWAŁĄ CUKRZYCĄ TYPU 1 ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ.....	58
IV.3.2. ANALIZA KORELACJI ADIPONEKTYNY Z PARAMETRAMI KLINICZNYMI I BIOCHEMICZNYMI U DZIECI Z NOWO ROZPOZNANĄ CUKRZYCĄ TYPU 1, Z DŁUGOTRWAŁĄ CUKRZYCĄ TYPU 1 ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ.....	62
IV.4. PORÓWNANIE GRUPY PACJENTÓW Z DŁUGOTRWAŁĄ CUKRZYCĄ TYPU 1 BEZ UDOKUMENTOWANYCH POWIKŁAŃ I Z POWIKŁANIAMI NACZYNIOWYMI.....	68
IV.4.1. PARAMETRY KLINICZNE W GRUPIE PACJENTÓW Z CUKRZYCĄ TYPU 1 BEZ OBECNOŚCI POWIKŁAŃ ORAZ W GRUPIE PACJENTÓW Z DŁUGOTRWAŁĄ CUKRZYCĄ TYPU 1 Z POWIKŁANIAMI NACZYNIOWYMI.....	68
IV.4.2. POZIOM LEPTYNY I ADIPONEKTYNY W GRUPIE PACJENTÓW Z DŁUGOTRWAŁĄ CUKRZYCĄ TYPU 1 BEZ UDOKUMENTOWANYCH POWIKŁAŃ ORAZ W GRUPIE PACJENTÓW Z CUKRZYCĄ TYPU 1 Z POWIKŁANIAMI NACZYNIOWYMI.....	73
IV.4.3. CHARAKTERYSTYKA PACJENTÓW Z DŁUGOTRWAŁĄ CUKRZYCĄ TYPU 1 W ZALEŻNOŚCI OD STOPNIA WYRÓWNIANIA METABOLICZNEGO CHOROBY, CZASU TRWANIA CHOROBY ORAZ WIEKU ZACHOROWANIA NA CUKRZYCĘ TYPU 1	75
IV.4.4. ANALIZA KORELACJI POMIĘDZY STOPNIEM WYRÓWNIANIA METABOLICZNEGO CUKRZYCY A WYBRANYMI PARAMETRAMI KLINICZNYMI I BIOCHEMICZNYMI U PACJENTÓW Z CUKRZYCĄ TYPU 1	79
V. Dyskusja.....	82
VI. Wnioski.....	104
VII. Streszczenie.....	105
VIII. Abstract.....	108
IX. Bibliografia	111
X. Załącznik	134

WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY

ABPM	całodobowy pomiar ciśnienia tętniczego krwi (<i>ambulatory blood pressure monitoring</i>)
ACE-I	inhibitory konwertazy angiotensyny (<i>angiotensin-converting enzyme inhibitors</i>)
ACTH	hormon adrenokortykotropowy (<i>adrenocorticotropic hormone</i>)
ADA	Amerykańskie Towarzystwo Diabetologiczne (<i>American Diabetes Association</i>)
AGA	przeciwciała przeciwgliadynowe (<i>antigliadin antibodies</i>)
AGEs	końcowe produkty glikacji (<i>advanced glycation end products</i>)
AMPK	kinaza aktywowana przez AMP (<i>AMP-activated protein kinase</i>)
APC	komórka prezentująca antygen (<i>antigen presenting cell</i>)
BMI	indeks masy ciała (<i>body mass index</i>)
COX-2	cyklooksygenaza 2 (<i>cyclooxygenase 2</i>)
CRP	białko C-reaktywne (<i>C-reactive protein</i>)
CTLA-4	antygen 4 cytotoksycznych limfocytów T (<i>cytotoxic T-lymphocyte antigen 4</i>)
DBP	rozkurczowe ciśnienie tętnicze krwi (<i>diastolic blood pressure</i>)
DKA	cukrzycowa kwasica ketonowa (<i>diabetic ketoacidosis</i>)
DC	komórka dendrytyczna (<i>dendritic cell</i>)
DC	powikłania cukrzycowe (<i>diabetic complications</i>)
DN	nefropatia cukrzycowa (<i>diabetic nephropathy</i>)
DR	retinopatia cukrzycowa (<i>diabetic retinopathy</i>)
DM1	cukrzyca typu 1 (<i>diabetes mellitus type 1</i>)
ELISA	test immunoenzymatyczny (<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
ESDR	przewlekłą schyłkową niewydolność nerek (<i>end-stage renal disease</i>)
ET-1	endotelina 1 (<i>endotelin-1</i>)
FSH	hormon folikulotropowy (<i>follicle-stimulating hormone</i>)
GAD	dekarboksylaza kwasu glutaminowego (<i>glutamic acid decarboxylase</i>)
GDM	cukrzyca ciężarnych (<i>Gestational Diabetes Mellitus</i>)
GLUT	transporter glukozy (<i>glucose transporter</i>)
GFR	wskaźnik filtracji kłębkowej (<i>glomerular filtration rate</i>)

HbA _{1c}	hemoglobina glikowana (<i>glycosylated hemoglobin</i>)
HDL	lipoproteina o wysokiej gęstości (<i>high density lipoprotein</i>)
HLA	układ zgodności tkankowej (<i>human leukocyte antigen</i>)
IA-2	fosfataza tyrozynowa IA-2
IAA	przeciwciała przeciwiinsulinowe (<i>insulin autoantibodies</i>)
IDF	Międzynarodowa Federacja Cukrzycowa (<i>International Diabetes Federation</i>)
IFN	interferon (<i>interferon</i>)
IGF-1	insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (<i>insulin-like growth factor 1</i>)
IL	interleukina (<i>interleukin</i>)
IRS-1	receptor insulinowy typu 1 (<i>insulin receptor substrate 1</i>)
JAK	kinaza tyrozynowa Janusa (<i>Janus kinase</i>)
LDL	lipoproteina o niskiej gęstości (<i>low density lipoprotein</i>)
LEPR	receptor leptyny (<i>leptin receptor</i>)
LH	hormon luteinizujący (<i>luteinizing hormone</i>)
LTB ₄	leukotrien B ₄ (<i>leucotriene B₄</i>)
MAPK	kinaza aktywowana mitogenem (<i>mitogen-activated protein kinase</i>)
MCP-1	chemotaktyczne białko dla monocytów (<i>monocyte chemotactant protein-1</i>)
MODY	cukrzyca o podłożu genetycznym (<i>Maturity Onset Diabetes of Youth</i>)
NK	komórka NK (<i>natural killer</i>)
NO	tlenek azotu (<i>nitric oxide</i>)
NOS	syntaza tlenku azotu (<i>nitric oxide synthase</i>)
NFκB	jądrowy czynnik transkrypcyjny κB (<i>nuclear factor κB</i>)
ObR	receptor leptyny (LEPR, <i>obese-receptor</i>)
PEDF	czynnik pochodzący z nabłonka barwnikowego (<i>pigment epithelium-derived factor</i>)
PI3K	kinaza fosfatydyloinozytolu (<i>phosphoinositide 3-kinase</i>)
PKC	kinaza białkowa C (<i>protein kinase C</i>)
PChN	przewlekła choroba nerek
PTPN22	białkowa fosfataza tyrozynowa N22 (<i>lymphoid protein tyrosine phosphatase N22</i>)
RAGE	receptor końcowych produktów glikacji (<i>receptor of advanced glycation end products</i>)

ROS	wolne rodniki tlenowe (<i>reactive oxygen species</i>)
SBP	skurczowe ciśnienie tętnicze krwi (<i>systolic blood pressure</i>)
SLE	toczeń rumieniowaty układowy (<i>systemic lupus erythematosus</i>)
SOCS	inhibitory sygnalizacji cytokin (<i>suppressors of cytokine signaling</i>)
STAT	białko uczestniczące w transdukcji sygnału (<i>signal transducer and activator of transcription</i>)
Tc	limfocyt cytotoksyczny T (<i>T cytotoxic cell</i>)
TCR	receptor limfocytów T (<i>T-cell receptor</i>)
TGA	przeciwciała przeciw transglutaminazie tkankowej (<i>tissue transglutaminase antibodies</i>)
TG-Ab	przeciwciała przeciw tyreoglobulinie (<i>antityreoglobulin antibodies</i>)
TGF- β	transformujący czynnik wzrostu β (<i>transforming growth factor β</i>)
Th	limfocyt pomocniczy T (<i>T helper cell</i>)
TNF- α	czynnik martwicy nowotworu- α (<i>tumor necrosis factor α</i>)
TPO-Ab	przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (<i>anti-thyroid peroxidase antibodies</i>)
Treg	limfocyt T regulatorowy (<i>T regulatory cell</i>)
TSH	hormon tyreotropowy (<i>thyroid-stimulating hormone</i>)
VCAM-1	cząsteczka adhezyjna komórek śródbłónka (<i>vascular cell adhesion protein 1</i>)
VEGF	czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego (<i>vascular endothelial growth factor</i>)
VDR	receptor witaminy D (<i>vitamin D receptor</i>)

I. WSTĘP

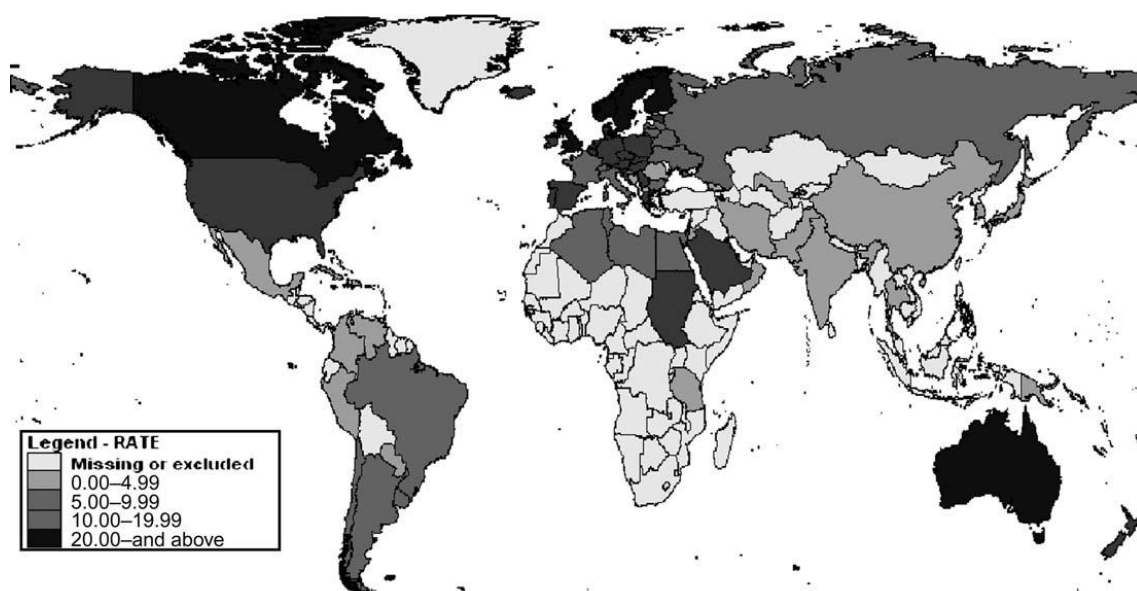
I.1. WPROWADZENIE

Cukrzyca (DM; *diabetes mellitus*) jest to grupa chorób metabolicznych, która charakteryzuje się hiperglikemią wynikającą z zaburzeń wydzielania insuliny, jej działania lub obu tych defektów [1]. Klasyfikacja Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego (ADA; *American Diabetes Association*) wyróżnia następujące typy cukrzycy: cukrzycę typu 1 (DM1; *Type 1 Diabetes Mellitus*), cukrzycę typu 2 (DM2; *Type 2 Diabetes Mellitus*), cukrzycę o podłożu genetycznym, będącą wynikiem mutacji w określonych genach (MODY; *Maturty Onset Diabetes of Youth*) oraz cukrzycę ciężarnych (GDM; *Gestational Diabetes Mellitus*) [2].

Cukrzyca jest znana od 3500 lat. Prawidłowe jej leczenie możliwe stało się jednak dopiero po odkryciu insuliny na początku XX wieku. Możliwość zastosowania leczenia insuliną u chorych na cukrzycę przyczyniła się do rozwoju współczesnej diabetologii.

I.2. EPIDEMIOLOGIA

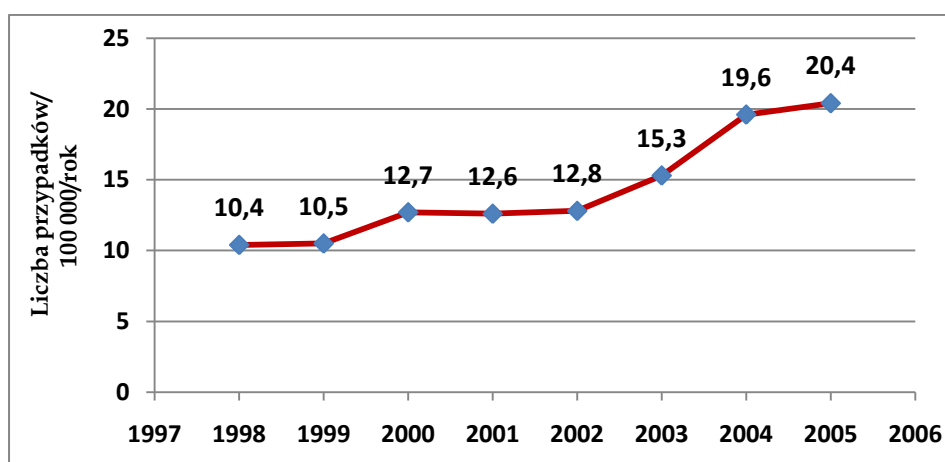
Badania epidemiologiczne, dotyczące zapadalności na cukrzycę, prowadzone w różnych krajach wykazują ciągły i postępujący, od ponad pół wieku, wzrost zapadalności na tę chorobę. Według danych Międzynarodowej Federacji Cukrzycowej (IDF; *International Diabetes Federation*) obecnie na świecie na cukrzycę choruje 284 milionów ludzi, a według prognozy IDF liczba ta, na wszystkich kontynentach, w 2030 roku wyniesie 438 miliony, co będzie stanowiło 7,7% globalnej populacji [3]. Największy odsetek chorych na cukrzycę występuje w Ameryce Północnej, gdzie osiąga on poziom 10,2% dorosłej populacji, natomiast w Europie wynosi 6,9%, w Polsce zaś 7,6% [3]. Przewiduje się, iż w 2030 roku średni odsetek chorych na cukrzycę będzie wynosił ponad 9% dorosłej populacji Europy [3].



Ryc. I.1. Mapa zapadalności (liczba przypadków/100 000/rok) na cukrzycę typu 1 u dzieci wg Solte'sz i wsp. 2007

Cukrzyca typu 1 stanowi około 10% wszystkich zaburzeń gospodarki węglowodanów i jest ona jedną z najczęstszych chorób przewlekłych w wieku dziecięcym. Badania epidemiologiczne ostatnich lat wykazały, iż zapadalność na cukrzycę typu 1 wzrasta od 2% do 5% rocznie [4]. Na świecie najwyższy wskaźnik zapadalności na cukrzycę typu 1 występuje w Finlandii (54/100 000 mieszkańców/rok), natomiast najniższy w Azji (1-2/100 000 mieszkańców/rok) i w Chinach (0.6/100 000 mieszkańców/rok). W Europie najniższy wskaźnik zapadalności obserwuje się w Rumunii (5.4/100 000 mieszkańców/rok) [3], zaś najwyższy w Finlandii. W Europie ponad 112 tysięcy dzieci, w wieku od 0 do 14 lat, choruje na cukrzycę typu 1 i obecnie, w tej grupie wiekowej, rozpoznaje się ponad 17 000 nowych zachorowań rocznie [3]. Przypuszcza się, iż w 2020 roku, w Europie, liczba dzieci poniżej 15 roku życia z cukrzycą typu 1 wzrośnie do 160 tysięcy [5]. Wzrost zapadalności na cukrzycę typu 1 różni się między poszczególnymi krajami, zauważono jednak wyższą dynamikę tego trendu w krajach do tej pory zaliczanych do niższej i średniej zapadalności [6]. Polska do 1998 roku zaliczana była do krajów o niższej zapadalności na cukrzycę typu 1. W okresie ostatnich 12 lat wystąpił szybki wzrost liczby zachorowań

na cukrzycę typu 1 w populacji polskiej, co spowodowało stopniowe przesunięcie Polski na poziom średni [7, 8]. Badania epidemiologiczne przeprowadzone w województwie pomorskim potwierdzają te obserwacje [9]. Na podstawie tych badań stwierdzono, iż w latach od 1998 do 2005 roku wystąpił prawie dwukrotny wzrost wskaźnika zapadalności na cukrzycę typu 1 w grupie pacjentów poniżej 15 roku życia (rok 1998 – 10,4/100 000/rok vs rok 2005 – 20,4/100 000/rok) (Ryc. I.2.).



Ryc. I.2. Zapadalność na cukrzycę typu 1 w wieku 0-15 lat w województwie pomorskim w latach 1998-2005 (*na podstawie Myśliwiec i wsp. 2006*).

Szczególnie niepokojący jest zaobserwowany w ostatnich latach dynamiczny wzrost zachorowań u dzieci w wieku od 0 do 4 lat [9]. W latach od 2003 do 2005 w województwie pomorskim nastąpił czterokrotny wzrost wskaźnika zapadalności na cukrzycę typu 1 w tej grupie wiekowej. Zapadalność na cukrzycę typu 1 w badanym czasie, w grupie wiekowej od 10 do 15 lat kształtowała się na podobnym poziomie [9].

Cukrzyca stała się chorobą cywilizacyjną i zapadalność na nią przybiera postać epidemii [6, 7]. Wyjaśnienie zjawiska wzrostu zapadalności na DM 1 wciąż jest przedmiotem licznych badań.

I.3. ETIOPATOGENEZA CUKRZYCY TYPU 1

Dotychczas patogeneza cukrzycy typ 1 nie została zupełnie wyjaśniona. Wiadomo, iż cukrzyca typu 1 jest chorobą o podłożu wieloczynnikowym. Liczne dane przemawiają za uczestnictwem czynników środowiskowych i genetycznych w procesie przełamania tolerancji na własny antygen i wyzwolenia komórkowej i humoralnej reakcji autoimmunologicznej na wybrane struktury komórek β [10]. Cukrzyca typu 1 jest następstwem procesu długotrwałego autoimmunologicznego niszczenia komórek β wysepek trzustki, który może mieć swój początek nawet kilka lat przed klinicznym ujawnieniem się objawów choroby [11]. Klasyczny model patogenezy autoimmunologicznej cukrzycy sugeruje, iż autoreaktywne limfocyty T i autoprzeciwciała mogą pojawiać się dopiero po uszkodzeniu wysepek trzustkowych przez jakieś inne czynniki inicjujące [12]. Według twórcy tej teorii w procesie indukowania autoantygenów, na powierzchni komórek β trzustki, mogą brać udział zarówno różne czynniki pochodzenia wewnętrznego (wolne rodniki, cytokiny), oraz jak i zewnętrznego (wirusy, toksyny, składniki pożywienia) [12].

Wiadomo, iż autodestrukcja komórek β wysp trzustkowych nie jest spowodowana pojedynczym patogenem, lecz występuje na skutek dynamicznych zaburzeń równowagi wielu czynników [13].

I.3.1. CZYNNIKI GENETYCZNE

Pewne geny, związane z regulacją odpowiedzi immunologicznej, predysponują do nasilonej reakcji zapalnej na bodźce zewnętrzne, zwiększając ryzyko autoimmunizacji [14]. Główny układ zgodności tkankowej (MHC; *Major Histocompatibility Complex*) u człowieka oznaczany jest jako HLA (*Human Leukocyte Antigens*) obejmuje grupę genów, które odgrywają ważną rolę w inicjacji i przebiegu procesu immunologicznego. Stwierdzono, iż w układzie HLA występują geny mogące wpływać na rozwinięcie się DM 1. Uważa się, iż wysoko polimorficzne geny klasy II MHC HLA-DR i HLA-DQ odpowiedzialne są w około 40–50% za ryzyko wystąpienia cukrzycy typu 1 [15, 16, 17, 18, 19]. Udowodniono, że do typu 1 cukrzycy predysponują następujące haplotypy z układu HLA: DR3-DQ2 i DR4-DQ8

[20] i szacuje się, iż genotyp taki występuje u około 80% osób z autoimmunologicznym typem cukrzycy [19]. Rozległe prowadzone badania wykazały także udział innych genów w predyspozycji do rozwoju typu 1 cukrzycy [21, 22, 23]. Dotychczas udało się zidentyfikować ponad 20 różnych miejsc w genomie ludzkim, które wydają się być powiązane z predyspozycją do rozwoju typu 1 cukrzycy [24, 19]. Stwierdzono, iż predysponujące do ujawnienia się tej choroby są polimorfizmy następujących genów: insuliny (INS), CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte antigen 4*), PTPN22 (kodujący białkową fosfatazę tyrozynową N22, *lymphoid protein tyrosine phosphatase N22*), receptora dla interleukiny-2 (IL-2RA) oraz receptora dla witaminy D (VDR).

Obecność alleli prodiabetogennych jest warunkiem niezbędnym, ale jednak nie wystarczającym do ujawnienia się autoimmunologicznej cukrzycy typu 1.

1.3.2. CZYNNIKI ŚRODOWISKOWE

W patogenezie typu 1 cukrzycy istotną rolę odgrywać mogą czynniki środowiskowe m.in.: zakażenia o etiologii wirusowej i bakteryjnej [25, 26, 27, 28], wiek matki powyżej 40 lat w momencie urodzenia dziecka, wczesne karmienie mlekiem krowim [29], brak suplementacji witaminą D₃ [29, 30], a także konserwanty i barwniki zawarte w produktach spożywczych [31, 32]. Uważa się, że ogromną rolę w obserwowanym wzroście zapadalności na cukrzycę typu 1 u najmłodszych dzieci odgrywać mogą czynniki działające już w okresie płodowym, a także okołoporodowym i wczesnoniemowlęcym [33].

Wprowadzenie do diety niemowląt białka zwierzęcego oraz brak lub krótkotrwałe karmienie naturalne być może jest przyczyną powstawania reakcji immunologicznej, która prowadzi do destrukcji komórek β trzustki [29, 31].

Jeden z mechanizmów, który doprowadza do rozwoju choroby, polega na bezpośrednim uszkodzeniu i zniszczeniu komórek β wysp trzustki przez wirus [34]. Jednak w większości przypadków diabetogeny wpływ infekcji wirusowej wydaje się być pośredni i sprowadzać się do indukcji procesu immunizacji skierowanej przeciw komórkom β wysp trzustki [10, 34, 35]. Nadal brak jest jednoznacznych

dowodów, że zakażenie wirusowe może stanowić bezpośrednią przyczynę ujawnienia się cukrzycy typu 1 u ludzi. Autorzy Frisk i wsp. wykazali korelację między wyższymi stężeniami interferonu α (INF- α) w surowicy krwi chorych, prowadzącymi do autoimmunizacji, a aktywnością przeciwciał przemawiających za infekcją enterowirusami [27]. Udowodniono również, że infekcje rotawirusami mogą być powiązane z autoimmunizacją przeciwko komórkom β trzustki u dzieci z genetyczną predyspozycją w kierunku cukrzycy typu 1 [36]. Mechanizm, przez który infekcja wirusowa prowadzić może do wzbudzenia komórkowej i humoralnej cytotoksyczności wobec komórek β wysp trzustkowych, nie jest jeszcze ostatecznie wyjaśniony. Jako wyjątek są określone typy enterowirusów (Coxsackie B 3, 4, 5 i Coxsackie A9), które w badaniach *in vitro*, w hodowlach ludzkich komórek β trzustki, mogą bezpośrednio powodować uszkodzenie funkcji komórek β , a nawet doprowadzić do ich martwicy, przez stymulację sekrecji różnych cytokin [34].

Innym czynnikiem środowiskowym mogącym zwiększać ryzyko rozwoju DM 1 jest niedobór witaminy D₃, co sugerują wyniki najnowszych publikacji [37, 38]. Szewczyk i wsp. potwierdzili tę hipotezę w swoich badaniach stwierdzając u dzieci z cukrzycą typu 1 niskie poziomy witaminy D₃ i wskazując na powiązanie pomiędzy dysfunkcją sekrecyjną komórek β trzustki i wysokim stopniem immunizacji a niedoborem witaminy D₃ [38]. Podobne wnioski wynikają z badań własnych, w których wykazano istotnie niższe stężenia witaminy D₃ u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycę typu 1 w porównaniu ze zdrowymi rówieśnikami [39]. Prewencyjny efekt witaminy D₃ może wynikać z jej immunosupresyjnych właściwości. Udowodniono, że 1,25 (OH)₂-cholekalcyferol, poprzez czynnik transkrypcyjny NF- κ B, hamuje sekrecję cytokin produkowanych przez limfocyt Th1 i zmniejsza ekspresję cząsteczek HLA II klasy i adhezyn międzykomórkowych oraz wpływa hamująco na proliferację i aktywację limfocytów we krwi obwodowej [40].

I.3.3. REAKCJA AUTOIMMUNOLOGICZNA

Wiadomo, iż cukrzyca typu 1 jest choroba o podłożu genetycznym, jednak bezpośrednie uszkodzenie komórek β trzustki jest spowodowane reakcją autoimmunologiczną, za czym przemawia obecność przeciwciał przeciw różnym

antygenom wyspowym. Nasza wiedza na temat patomechanizmu rozwoju cukrzycy typu 1 pochodzi głównie z badań przeprowadzanych na zwierzęcych modelach cukrzycy (myszy NOD; *non-obese diabetic* oraz szczury BB; *bio breeding*), u których jest możliwe przeprowadzenie badania histopatologicznego wysp trzustkowych na różnych etapach rozwoju cukrzycy [19].

Przyjmuje się, że u osób z genetyczną predyspozycją do cukrzycy typu 1, destrukcja komórek β trzustki jest zainicjowana prezentacją zmienionych, pod wpływem czynników środowiskowych, antygenów komórek β trzustki. Uwolniony autoantygen jest przechwytywany, a potem przetworzony przez immunokompetentne komórki prezentujące antygen (APC; *antigen presenting cells*), głównie makrofagi i komórki dendrytyczne (DC; *dendritic cells*) [19]. Proces ten odbywa się przy udziale obecnych na powierzchni APC II klasy antygenów HLA. Potwierdzają to badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych, gdzie wykazano, że jako pierwsze w obrębie wysp trzustkowych gromadzą się komórki prezentujące antygen [41]. Później zaczynają pojawiać się komórki NK (*natural killer*), limfocyty T oraz limfocyty B, co zgodne jest ze znaną sekwencją aktywacji odpowiedzi wrodzonej i nabytej. Decydującą rolę w rozwoju komórkowej odpowiedzi immunologicznej odgrywają limfocyty pomocnicze T CD4+ (Th; *T helper cells*) [42]. Limfocyty T rozpoznają przygotowany przez APC antygen za pomocą swojego receptora TCR (*T cell receptor*) i prowadzi to do ich aktywacji. Aktywne limfocyty T produkują i wydzielają limfokiny, za pośrednictwem których zwrotnie stymulują komórki prezentujące antygen do ekspresji cząstek MHC II klasy oraz aktywują inne komórki układu immunologicznego do migracji (makrofag, komórki NK) i do produkcji cytokin: TNF- α , IL-12, IL-18 lub bezpośredniego działania cytotoksycznego na komórki β trzustki. Silne pobudzenie przelicznych komórek układu immunologicznego oraz wzrost lokalnego stężenia cytokin prozapalnych prowadzi do migracji w rejon komórek wysepek trzustkowych limfocytów T CD8+ cytotoksycznych (Tc; *cytotoxic T cell*) i nasila to ekspresję cząsteczek MHC klasy I na komórkach β trzustki, czyniąc je jeszcze bardziej podatnymi na atak ze strony komórek T CD8+ cytotoksycznych, bezpośrednio zaangażowanych w przekazywanie sygnału

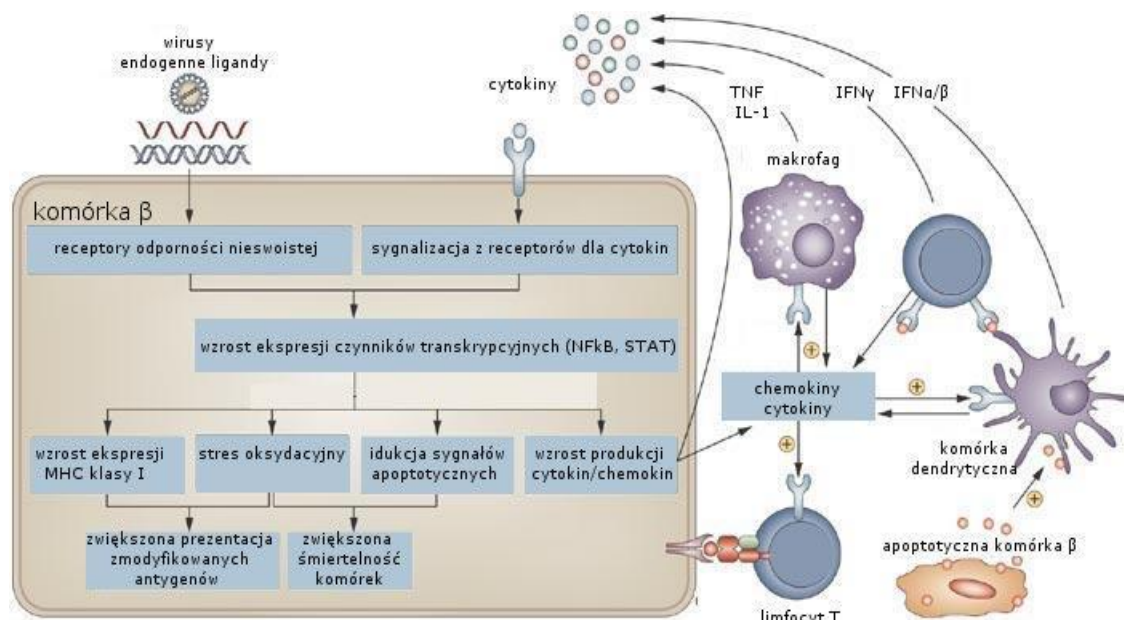
komórkom β trzustki do wejścia na drogę martwicy. W efekcie prowadzi to nacieku wysp trzustkowych komórkami mononuklearnymi (*insulitis*) z towarzyszącą wzmożoną apoptozą komórek β trzustki [19, 41, 42].

Innym sposobem wyjaśnienia mechanizmu inicjacji autoagresji może być proces mimikry molekularnej, opierający się na wystąpieniu krzyżowej reakcji immunologicznej. Pierwotnie skierowana przeciw obcemu antygenowi odpowiedź immunologiczna, na skutek podobieństwa epitopów patogenu do antygenów komórek β trzustki, prowadzić w efekcie może do niszczenia własnych komórek [43].

Ostatnio natomiast więcej zwolenników zyskała tzw. „hipoteza akceleratora”, proponowana przez Wilkina, sugerująca wspólne podłoże cukrzycy typu 1 i cukrzycy typu 2. Teoria Wilkina zakłada istnienie trzech procesów prowadzących do przyspieszenia apoptozy komórek β wysp trzustkowych i przyczyniających się do wystąpienia niedoboru insuliny oraz ujawnienia się choroby, a mianowicie: konstytucjonalna podatność komórek β trzustki na apoptozę, insulinooporność oraz reakcja autoimmunologiczna skierowana przeciwko antygenom wysp trzustkowych. Czynnikiem różnicującym według Wilkina jest nadmierna masa ciała, a podstawowa różnica między typem 1, a typem 2 cukrzycy wynika jedynie z tempa destrukcji komórek β wysp trzustkowych. W grupie osób genetycznie predysponowanych destrukcja komórek β trzustki przyspieszona jest przez rozwój reakcji autoimmunologicznej, prowadząc do ujawnienia się obrazu klinicznego cukrzycy typu 1 [44].

Przedmiotem badań licznych autorów jest próba wyjaśnienia roli poszczególnych czynników sprawczych w patogenezie autoimmunologicznej postaci cukrzycy typu 1. Wyniki ich prac dowodzą, iż kluczową rolę w reakcji autoimmunologicznej autoagresji przeciw antygenom komórek β wysp trzustki może odgrywać zaburzona równowaga pomiędzy subpopulacjami limfocytów pomocniczych (Th; *T-helper cells*) Th1 oraz Th2, na korzyść przewagi limfocytów Th1. Limfocyty Th1 charakteryzują się cechami komórek autoreaktywnych i posiadają one zdolności do sekrecji IL-2, INF- γ , TNF- α i aktywacji makrofagów, limfocytów cytotoksycznych (Tc; *cytotoxic T cells*; CD8+) i komórek NK (*natural killer cells*) [45].

Z kolei subpopulacja limfocytów Th2 produkując między innymi IL-13, IL-4, IL-10, IL-5 indukuje odpowiedź humoralną oraz produkcję przeciwciał. Spełniają one także funkcję komórek regulatorowych, poprzez hamowanie aktywności limfocytów Th1 [46]. Badania subpopulacji Th2 i produkowanych przez nie cytokin sugerują, że większa zdolność do sekrecji IL-4 i IL-10 może znacznie zmniejszać ryzyko rozwoju DM 1 u osób z genetycznym obciążeniem tą chorobą [47]. Najnowsze badania subpopulacji limfocytów krwi obwodowej osób chorych na typ 1 cukrzycy wykazały defekt funkcji komórek regulatorowych CD4+CD25+ (Treg; *T regulatory cells*), wyrażający się zmniejszoną produkcją INF- γ , IL-2 i TGF- β oraz upośledzeniem zdolności hamowania proliferacji limfocytów T po stymulacji *in vitro* [48]. Nieprawidłowe funkcjonowanie i działanie tych komórek, o właściwościach immunosupresyjnych, może być istotnym czynnikiem ułatwiającym rozwój procesu autoimmunizacyjnego [49]. Łuczyński i wsp. w swoich badaniach wykazali obniżony odsetek komórek T regulatorowych u dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 [50].



Ryc. I.3. Interakcje pomiędzy komórkami β trzustki a komórkami układu immunologicznego prowadzące do rozwoju cukrzycy typu 1 (zmodyfikowano na podstawie Eizirik DL 2009)

Rezultatem reakcji autoimmunologicznej jest obecność przeciwciał przeciwwyspowych w surowicy krwi pacjentów z cukrzycą typu 1.

Najczęściej oznaczane dla potwierdzenia autoimmunologicznego podłoża cukrzycy typu 1 są przeciwciała przeciw autoantygenom:

- (A) dekarboksylazie kwasu glutaminowego (GAD 65; *glutamic acid decarboxylase*), enzym syntetyzowany przez komórki β trzustki, uznawany za jeden z głównych autoantygenów stymulujących rozwój reakcji autoimmunologicznej prowadzącej do rozwoju cukrzycy typu 1
- (B) insulinie (IAA; *insulin autoantibodies*) wykrywane u ponad 60% pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1
- (C) wyspowej białkowej fosfatazie tyrozynowej (IA-2).

I.4. NOWE ROZPOZNANIE CUKRZYCY TYPU 1

Symptomy kliniczne cukrzycy typu 1 w dużym stopniu zależą od wieku ujawnienia się choroby i przebiegu procesu autoimmunologicznego. Objawy podmiotowe DM1 to przede wszystkim: wzmożone pragnienie, obecność suchości w ustach, zwiększenie oddawania moczu i znaczna utrata masy ciała. Podłożem cukrzycowej kwasicy ketonowej (DKA; *diabetic ketoacidosis*) jest deficyt działania biologicznego insuliny i towarzyszący mu wzrost sekrecji hormonów kontrregulacyjnych (glukagon, katecholaminy, kortyzol, hormon wzrostu) [51]. Niedobór insuliny prowadzi do hiperglikemii w skutek upośledzonego zużycia glukozy w tkankach zależnych od insuliny, głównie w mięśniach i tkance tłuszczowej oraz nadmiernej produkcji glukozy w wątrobie i nerkach w procesie glukoneogenezy. Deficyt insuliny w połączeniu ze wzrostem hormonów kontrregulacyjnych doprowadza do katabolizmu białek, zwiększonej lipolizy i oksydacji kwasów tłuszczowych w wątrobie ze zwiększeniem ketogenezy, a to w konsekwencji skutkuje ketonemia z kwasicą nieoddechową [51].

Według obowiązujących standardów DKA rozpoznaje się przy stwierdzeniu wartości pH < 7,3 we krwi żyłnej oraz stężeniu wodorowęglanów < 18 mmol/l.

W klasyfikacji ciężkości wyróżnia się kwasicę lekkiego stopnia (pH 7,25 - 7,3), średniego (pH 7,0 - 7,24) i ciężkiego (pH < 7,0) [2, 52].

Ujawnianie się cukrzycy typu 1 ma miejsce w momencie, gdy niedobór insuliny związany z utratą wysp trzustkowych, powoduje powstanie objawów klinicznych i konieczne jest włączenie substytucji insuliną. W momencie rozpoznania DM1 z reguły nie doszło jeszcze do całkowitego zniszczenia komórek produkujących insulinę.

Krótki czas po pojawieniu się choroby zwykle występuje okres remisji, trwający do około roku. Stężenie peptydu C (*connecting peptide*), który stanowi fragment cząsteczki proinsuliny, uwalniany z komórek β trzustki razem z insuliną w równomolarnych stężeniach, jest parametrem służącym do oceny rezerw endogennej insuliny.

U około 90% dzieci z typem 1 cukrzycy nowo rozpoznanej można stwierdzić obecność przeciwciał przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego, insulinie lub błonowej fosfatazie białkowej tyrozyny [19].

1.5. PRZEBIEG KLINICZNY CUKRZYCY TYPU 1

Rozpoznanie cukrzycy typu 1 bezwzględnie wymaga natychmiastowego włączenia leczenia insuliną. Obecnie standardem leczenia pacjentów z cukrzycą typu 1 jest funkcjonalna intensywna insulinoterapia stosowana drogą wielokrotnych wstrzyknięć za pomocą penów lub z zastosowaniem osobistej pompy insulinowej [1]. Ważnym elementem leczenia cukrzycy typu 1 jest także stała edukacja pacjenta oraz jego rodziny oraz bardzo staranna samokontrola prowadzona przez samego chorego [2]. Funkcje regulacyjne komórek β trzustki muszą zostać zastąpione wnikliwą kontrolą choroby realizowaną przez pacjenta. Wieloletnie badania wykazały, że prawidłowe wyrównanie metaboliczne cukrzycy pozwala na prawidłowy rozwój fizyczny i psychiczny dziecka, a także na prewencję rozwoju ostrych (hipoglikemii, kwasicy metabolicznej) i przewlekłych powikłań choroby (nefropatii i retinopatii cukrzycowej) [223]. Przewlekłe powikłania cukrzycy typu 1 w większości przypadków ujawniają się klinicznie kiedy pacjent osiągnie wiek dorosły i stanowią problem diagnostyczny i terapeutyczny diabetologów -

internistów. Jednakże ich ujawnienie jest pewnym nieodwracalnym faktem dokonanym o negatywnym wpływie na stan zdrowia pacjenta. Dlatego też prewencja przewlekłych powikłań cukrzycy jest jednym z zasadniczych długoterminowych celów leczenia cukrzycy typu 1 i istotnym kryterium oceny przydatności nowych metod postępowania.

Mimo znacznego postępu terapii cukrzycy typu 1 efekt prawidłowego wyrównania metabolicznego nie zawsze związane jest ze zmniejszeniem ryzyka rozwoju późnych powikłań naczyniowych.

W ostatnich latach poszukuje się odpowiedzi na pytanie, w jak dużym stopniu mediatory reakcji immunologicznej biorące udział w rozwoju cukrzycy typu 1 mogą wpływać na uszkodzenie naczyń i innych narządów, w tym narządu wzroku i nerek u dzieci z długotrwałą cukrzycą typu 1.

I.6. PÓŹNE POWIKŁANIA CUKRZYCY

I.6.1. RETINOPATIA CUKRZYCOWA

Jednym z późnych powikłań cukrzycy typu 1 jest retinopatia cukrzycowa (DR; *diabetic retinopathy*) i jest ona najczęstszą przyczyną utraty wzroku u pacjentów z cukrzycą. Klinicznie jawne zmiany na dnie oka zwykle nie pojawiają się przed upłynięciem 5 lat od ujawnienia się cukrzycy [53]. Według obserwacji Dane i wsp. po około 10 latach trwania cukrzycy objawy retinopatii cukrzycowej stwierdza się już u około 50%, natomiast po 20-30 latach nawet u 90% pacjentów z cukrzycą typu 1 [54]. Jednak na podstawie badania DCCT (*Diabetes Control and Complications Trial*) stwierdzono, iż pojawienie się nieproliferacyjnej retinopatii można znacznie opóźnić przez poprawę kontroli glikemii [55]. Wczesnie stwierdzona tendencja do retinopatii cukrzycowej, zanim wystąpią zmiany na dnie oka jest bardzo ważna w profilaktyce poważnych zmian w narządzie wzroku, zwłaszcza u pacjentów w wieku rozwojowym.

Coraz więcej badań potwierdza, iż w patogenezie retinopatii cukrzycowej, w przebiegu cukrzycy typu 1, poza hiperglikemią, czasem trwania choroby, współistniejącym nadciśnieniem tętniczym i paleniem tytoniu, istotną rolę

odgrywają czynniki genetyczne. Wiele genów, predysponujących do rozwoju retinopatii cukrzycowej równocześnie bierze udział w prawidłowym funkcjonowaniu i regulacji mikrokrażenia siatkówkowego [56]. W różnych badaniach udowodniono rolę genów z układu HLA w predyspozycji do wczesnego rozwoju retinopatii cukrzycowej, a przede wszystkim alleli HLA B62, HLA Cw4, HLA DQ4 [57] oraz HLA DQ B1 [58]. Sugeruje się jednak, iż genetyczna predyspozycja do powstania retinopatii cukrzycowej, nie jest związana wyłącznie z genami układu HLA. Udowodniono udział polimorfizmu wielu innych genów w rozwoju retinopatii cukrzycowej: genu reduktazy aldozowej [59, 60, 61], genu śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (NOS) [62, 63], genu czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF; *vascular endothelial growth factor*) [64, 65, 66], genu receptora witaminy D3 (VDR, *Vitamin D receptor*) [62, 67], receptora końcowych produktów zaawansowanej glikacji [68].

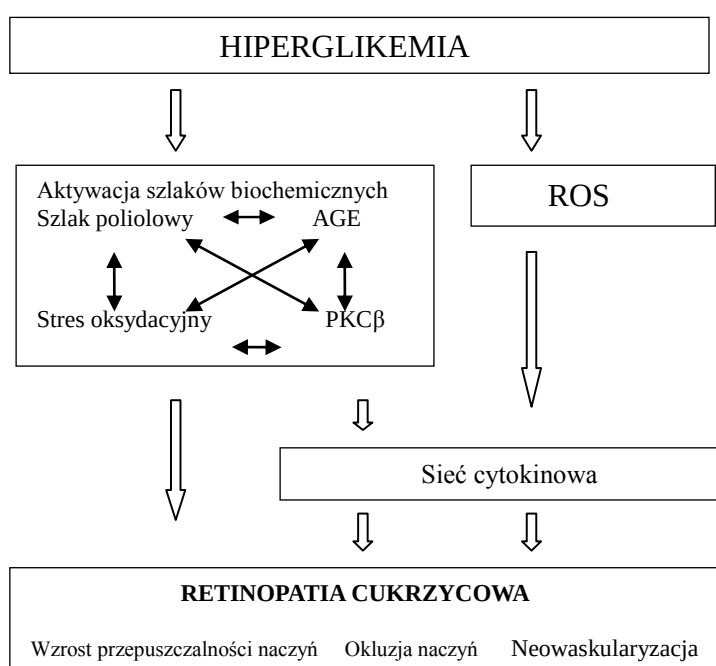
Zmiany stwierdzane i widoczne w oku w przebiegu retinopatii cukrzycowej dotyczą przede wszystkim tętniczek przedwłosowatych, włosowatych i drobnych naczyń żylnych siatkówki [69, 70]. Zanim rozwija się zmiany na dnie oka widoczne w badaniu oftalmoskopowym lub w badaniu angiografii fluoresceinowej, w doświadczalnym badaniu immunohistopatologicznym obserwowane są już patologiczne zmiany w zakresie naczyń przedwłosowatych, włosowatych i małych naczyń żylnych o średnicy mniejszej niż 100 μm [70]. Na początkowym etapie rozwoju retinopatii cukrzycowej następuje pogrubienie błony podstawnej naczyń włosowatych, ich zwężenie i zamykanie, zanik pericytów oraz osłabienie i rozdzielenie ich ścian, a w konsekwencji prowadzi to do powstania mikrotętniaków oraz proliferacji komórek śródbłonka. Dochodzi także do czynnościowych zmian w małych naczyniach, zwiększania ich przepuszczalności i przełamania bariery krew-siatkówka. Wynikiem zwiększonej przepuszczalności naczyń są obrzęki i krwotoki pojawiające się w obrębie siatkówki. Z kolei konsekwencją zamykania się naczyń siatkówki jest pojawienie się w jej obrębie obszarów pozbawionych dopływu krwi, co skutkuje przewlekłym jej niedokrwieniem i niedotlenieniem oraz następowym wzrostem produkcji czynników wzrostu i indukowaniem powstawania nowych naczyń, tworzeniem się anastomoz tętniczo-żylnych i rozplemieniem tkanki

włóknistej w obrębie siatkówki oraz tarczy nerwu wzrokowego [69, 70]. Powstająca tkanka łączna, bliznowaciejąc, może doprowadzić do trakcyjnego odwarstwienia siatkówki. Niestety w wyniku zmian powstałych w narządzie wzroku w przebiegu cukrzycy może dojść do utraty wzroku. Dlatego dokładne poznanie patogenez retinopatii może pozwolić na zmniejszenie częstości jej występowania oraz zminimalizowanie stopnia nasilenia zmian naczyniowych w obrębie narządu wzroku w przebiegu cukrzycy.

Przyczyna uszkodzeń naczyń siatkówki w przebiegu cukrzycy nie została jednoznacznie wyjaśniona. Część badaczy popiera hipotezę, iż hiperglikemia jest czynnikiem inicjującym rozwój angiopatii [71]. Utrzymujące się stany hiperglikemiczne przyczyniać mogą się do zaburzenia procesów biochemicznych na poziomie komórkowym, a to prowadzi do kumulacji poliolii, a w następstwie wzrostu ciśnienia osmotycznego i uszkodzenia komórek śródbłonna siatkówki [71]. Pogrubienie błony podstawnej kapilar również jest związane ze zwiększoną aktywnością szlaku poliolowego, co może doprowadzać do ograniczenia dostępności czynników wzrostu i w konsekwencji martwicy komórek śródbłonna [72]. Przewlekła hiperglikemia jest jeszcze ponadto przyczyną nieenzymatycznej glikacji białek i wzmożonego tworzenia późnych produktów glikacji (AGE, *advance glycation end products*) [71, 73]. Gromadzenie się AGE w naczyniach włosowatych siatkówki przyczynić się może do utraty pericytów i do powstawania mikrotętniaków [71]. Podwyższone stężenie glukozy może zmieniać ekspresję i aktywność różnych określonych białek. Stwierdzono, że przy hiperglikemii aktywacji ulega białkowa kinaza C (PKC, *protein kinase C*) [74]. Wydaje się zatem, iż hiperglikemia może odgrywać kluczową rolę w rozwoju retinopatii cukrzycowej. Nie oznacza to jednak, że jest ona jedynym czynnikiem odpowiedzialnym za rozwój retinopatii w przebiegu DM. Przemawiają za tym badania mówiące i potwierdzające występowanie retinopatii cukrzycowej u pacjentów i z prawidłowym wyrównaniem metabolicznym cukrzycy [55, 71].

W prowadzonych wielu badaniach, nad patogenezą retinopatii cukrzycowej, coraz większą uwagę poświęca się komórkom układu immunologicznego

i procesowi stanu zapalnego [75, 76]. Należy koniecznie pamiętać, iż stan zapalny, komórki układu immunologicznego oraz hiperglikemia są ze sobą ściśle powiązane. Przewlekłe stany hiperglikemiczne mogą stymulować syntezę cytokin prozapalnych [77], które wpływają na komórki układu immunologicznego [78]. W pracach Myśliwiec i wsp. wykazano, u dzieci z cukrzycą typu 1 i retinopatią cukrzycową, wyższy poziom cytokin prozapalnych w porównaniu z grupą pacjentów bez powikłań i grupą kontrolną [79, 80].



Ryc. I.4. Patofizjologia Retinopatii Cukrzycowej (zmodyfikowano na podstawie Funatsu 2002)

Aktualnie predyspozycja genetyczna do rozwoju retinopatii cukrzycowej pozostaje niezmiennym czynnikiem ryzyka u określonego chorego przez całe życie. Natomiast należy założyć, iż identyfikacja czynników, które biorą udział w procesie uszkodzania narządu wzroku na początku trwania choroby może pozwolić na ich eliminację, a w efekcie opóźnić wystąpienie późnych powikłań naczyniowych pod postacią pogorszenia widzenia lub całkowitej utraty wzroku.

I.6.2. NEFROPATIA CUKRZYCOWA

Nefropatia cukrzycowa jest jedną z najczęstszych przyczyn przewlekłej niewydolności nerek stwierdzanej w populacji dorosłej [81, 82]. Rozwinać się ona może u 50 - 60% pacjentów z cukrzycą typu 1. Wśród chorych będących na leczeniu nerkozastępczym ponad 50% to pacjenci z rozpoznaną nefropatią cukrzycową [83, 84]. Nefropatia cukrzycowa jest stanem rozwijającym się przez wiele lat. Mogensen wyróżnił w jej przebiegu kilka płynnie następujących po sobie okresów [89]. Już często w momencie rozpoznania cukrzycy, obserwuje się objawy typowe dla stadium I DN t.j. zwiększenie objętości nerek i wzrost przesączania kłębkowego. W stadium II nefropatii cukrzycowej wydalenie albuminy w moczu jest jeszcze w granicach normy, jak również wskaźnik przesączania kłębkowego (GFR; *glomerular filtration ratio*) i ciśnienia tętniczego krwi są najczęściej jeszcze prawidłowe. Na tym etapie widoczne będą jedynie zmiany morfologiczne w badaniach histopatologicznych nerek, pod postacią przerostu kłębuszków nerkowych, pogrubienia ich błony podstawnej, pogrubienia błony podstawnej cewek nerkowych, rozplemienia komórek mezangium oraz niewielkiego rozszerzenia przestrzeni śródmiąższowej [85, 86].

Za wczesny objaw nefropatii cukrzycowej uważany jest niewielki wzrost wydalenia albuminy z moczem określany mianem mikroalbuminurii i jest to marker identyfikujący pacjentów zagrożonych rozwojem nefropatii cukrzycowej [87, 88, 89]. Mikroalbuminurię definiuje się jako wydalenie z moczem 30-300 mg albuminy w ciągu 24 godzin, stwierdzone dwu- lub trzykrotnie w przeciągu 6 miesięcy [1]. Jednak dopiero w okresie III cukrzycowej choroby nerek stwierdza się zwiększone wydalenie albuminy w moczu. Na tym etapie choroby dochodzi do dalszego pogrubienia błony podstawnej kłębuszków nerkowych i ekspansji mezangium, wykładnikiem III stadium jest stała mikroalbuminuria i stopniowy wzrost ciśnienia tętniczego krwi. A więc stwierdzenie mikroalbuminurii, w odniesieniu do wyników badań histopatologicznych, nie może stanowić prognozy powstania nefropatii, a jest ona niestety wynikiem dużego uszkodzenia kłębków nerkowych.

Kolejnym stadium jest etap makroalbuminurii lub jawnej nefropatii (> 300 mg albuminy wydalaney z moczem w czasie doby). Stałe pogarszanie się funkcji nerek, charakteryzujące się zmniejszeniem GFR, prowadzi do klinicznej schyłkowej niewydolności nerek (ESRD, *end stage of renal disease*) [90]. Obserwacje kliniczne wskazują na to, że u około 80% chorych na cukrzycę typu 1, u których występuje mikroalbuminuria, w ciągu 10 - 15 lat nastąpi najpewniej rozwój jawnej nefropatii. U 75% pacjentów z ujawnioną nefropatią cukrzycową w przeciągu 20 lat rozwinie się ESRD [76, 90]. Fakty te są argumentami na rzecz poszukiwania innych, być może wcześniej ujawniających się niż stała mikroalbuminuria, czynników predysponujących pacjenta do wystąpienia tego powikłania.

Patomechanizm rozwoju nefropatii cukrzycowej nie jest nadal do końca wyjaśniony. W patogenezie zmian w nerkach występujących w przebiegu cukrzycy z jednej strony podkreślane są genetyczne czynniki, z drugiej natomiast współdziałanie czynników metabolicznych, biochemicznych i hemodynamicznych [90]. Podstawowym elementem w rozwoju nefropatii cukrzycowej jest uszkodzenie błony podstawnej kłębuszków nerkowych [91].

Wykazano, że wraz z postępującym uszkodzeniem nerek zwiększa się grubość błony podstawnej, dochodzi do patologicznych zmian w obrębie komórek mezangium i naczyń, tworzą się późne produkty glikacji, gromadzą się poliole, powstałe na szlaku reduktazy aldozowej, oraz dochodzi do aktywacji kinazy białkowej C [90, 91]. Prowadzone są liczne badania nad poszukiwaniem czynników predysponujących do rozwoju nefropatii cukrzycowej i sugeruje się, że zmiany w nerkach w przebiegu cukrzycy typu 1 w istotnym stopniu zależą od czynników genetycznych. Obecnie uważa się, że ponad 30 różnych genów może mieć związek z rozwojem nefropatii cukrzycowej. Wykazano, iż pacjenci z cukrzycą typu 1 charakteryzujący się obecnością antygeny HLA-A2 mają dwukrotnie wyższe ryzyko rozwoju nefropatii [92, 93]. Stwierdzono także związek polimorfizmów niektórych genów z większym ryzykiem występowania nefropatii cukrzycowej m.in.: reduktazy metyltetrahydrofolanu, inhibitor aktywatora plazminogenu-1, a także śródbłonkowej syntetazy tlenu azotu [94], genu transportera glukozy (GLUT 1) [98]

transformującego czynnika wzrostu $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$, *transforming growth factor $\beta 1$*) [95], genu receptora końcowych produktów glikacji [96], konwertazy angiotensyny [93] oraz receptora insuliny i endoteliny [97].

W chwili obecnej nie istnieje możliwość wpływania na genetyczną podatność zwiększonego ryzyka rozwoju nefropatii cukrzycowej u chorych na cukrzycę typu 1.

Z szeroko prowadzonych prac nad poznaniem patogenezы rozwoju nefropatii cukrzycowej wiadomo, iż hiperglikemia może pobudzać także syntezę szeregu cytokin, w tym TGF- β , który odpowiedzialny jest za zwiększone odkładanie się pozakomórkowych białek macierzy (kolagen typ I, IV, V i VII, fibronektyna i laminina) w kłębuszku nerkowym, i może w ten sposób powodować ekspansję mezangium i pogrubienie błony podstawnej kłębuszka [99].

Mimo, że wiele badań opisuje związek między poziomami czynników zapalnych (takich jak IL-8, IL-6, VEGF i TNF α) w surowicy krwi z rozwojem nefropatii cukrzycowej [100, 101], konieczne są jednak dalsze badania wyjaśniające rolę i mechanizm działania tych i innych cytokin w rozwoju nefropatii cukrzycowej. Jeśli zostanie poznana dokładna rola wybranych cytokin w rozwoju cukrzycowej choroby nerek, to zapobieganie temu procesowi może okazać się kluczowym celem dla zahamowania rozwoju zmian w nerkach w przebiegu cukrzycy. Wiadomo, że zmiany w nerkach w przebiegu cukrzycy typu 1 u dzieci mogą zachodzić już w pierwszych miesiącach i latach choroby i prawdopodobnie w tym czasie mogą być jeszcze w pełni odwracalne.

Do tej pory podstawowy sposobem leczenia późnych powikłań naczyniowych w przebiegu cukrzycy była i jest kontrola glikemii oraz ewentualne zastosowanie inhibitorów konwertazy angiotensyny (ACE-I). Udowodniono, iż leki te mają działanie przeciwzapalne poprzez modulację czynnika NF- κ B. Na badanych modelach eksperymentalnych enalapril prawie całkowicie znosi lokalną ekspresję TNF- α [102]. Jednak z prowadzonych powszechnie badań klinicznych wynika, iż prawidłowa kontrola glikemii i leczenie inhibitorami ACE nie zawsze ochroni pacjenta przed rozwojem nefropatii i retinopatii cukrzycowej [103].

Całkowite poznanie i zrozumienie procesów zapalnych aktywowanych w patogenezie nefropatii cukrzycowej może prowadzić do odkrycia wcześniejszych oraz bardziej wiarygodnych markerów niż albuminuria i do wprowadzenia nowych możliwości terapeutycznych.

I.7. ADIPOCYTOKINY

Wiele badań ostatnich lat zwraca uwagę na rolę tkanki tłuszczowej jako ważnego narządu wydzielania wewnętrznego. W tkance tłuszczowej produkowane są białka, określane wspólną nazwą adipocytokin. Zaliczamy do nich adiponektynę, apelinę, leptynę, rezystynę, wisfatynę, TNF- α , TGF- β , waspinę i wiele innych [104]. Z ostatnich doniesień wynika, że adipocytokiny pełnią ważną rolę w patogenezie wielu chorób metabolicznych oraz autoimmunologicznych. Ostatnio coraz więcej mówi się o ich roli w patogenezie cukrzycy typu 1 oraz wpływie na jej przebieg i rozwój późnych powikłań naczyniowych [104].

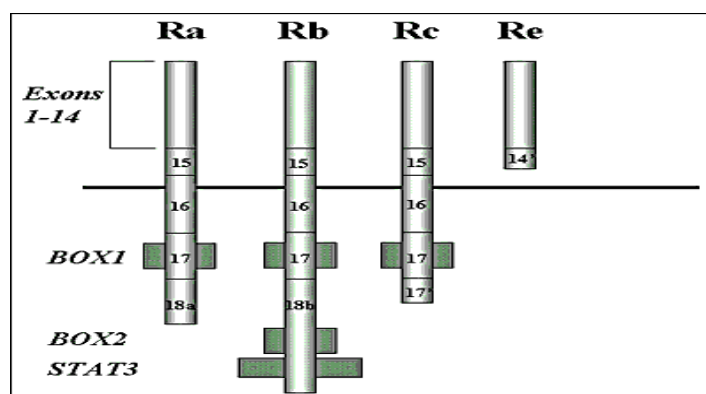
I.7.1. LEPTYNA

Leptyna została odkryta, jako pierwsza z adipocytokin, w roku 1994. Jest ona produktem genu *ob* zlokalizowanego na chromosomie 7q 31.3 [105]. Ekspresję genu leptyny stwierdzono nie tylko w tkance tłuszczowej, ale też w nabłonku żołądka, łożysku, podwzgórzu, przysadce nerwowej, mięśniach szkieletowych oraz gruczole piersiowym [106, 107, 108]. Leptyna produkowana jest przez dojrzałe adipocyty, ale również przez komórki wielu innych narządów, m.in. łożyska, żołądka i mięśni szkieletowych [108]. Jest ona jednołańcuchowym polipeptydem zawierającym 167 aminokwasów, o masie cząsteczkowej 16-kDa i strukturze homologicznej z cytokinami [104, 108]. Występuje ona w organizmie w formie wolnej i związanej z rozpuszczalną izoformą receptora (s-ObR) [109]. Wiadomo, iż wydzielanie leptyny ma charakter pulsacyjny i stwierdzono jego rytm dobowy ze szczytem w nocy, odwrotnie niż s-ObR [105, 110].

Działanie biologiczne leptyny odbywa się przez pięć izoform receptora,

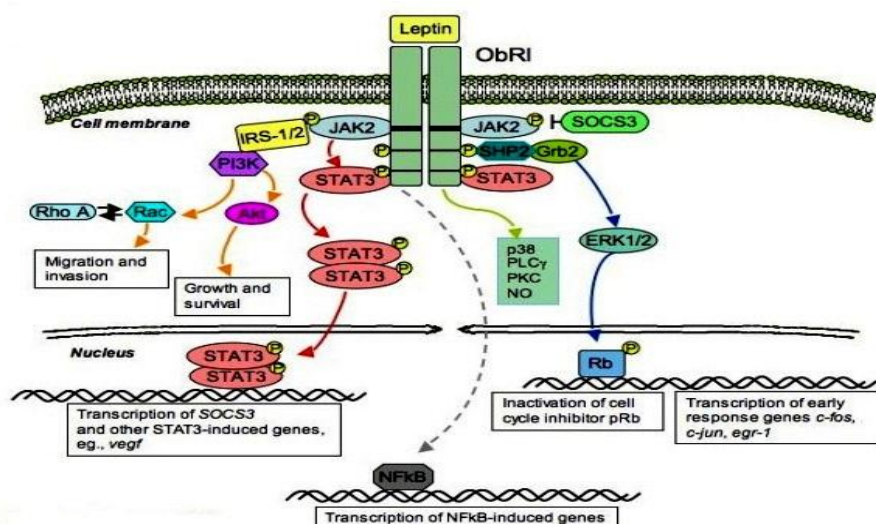
powstających na drodze alternatywnego składania transkryptu. Wszystkie izoformy receptora mają identyczną domenę wiążącą ligand, różnią się natomiast budową fragmentu C-końcowego (Ryc. I.5.). Receptor leptyny ObR (LEPR) należy do rodziny receptorów cytokin klasy I, która zawiera również receptor dla IL-2, INF i receptor dla hormonu wzrostu [111]. Uważa się, że wyłącznie izoforma długołańcuchowa receptora jest funkcjonalnym receptorem dla białka tego.

Rozpuszczalna forma receptora leptyny decyduje o jej biodostępności tkankowej, hamując wiązanie z receptorami błonowymi i wykazuje ona przeciwną do leptyny korelację [109].



Ryc. I.5. Izoformy receptora leptyny. Lepr-a (Ra) – krótka izoforma receptora leptyny, Lepr-b (Rb) – długa izoforma receptora leptyny. Exon 17 zawiera stronę dokującą Jak (BOX1) w Ra, Rb i Rc, natomiast exon 18b zawiera dodatkowe miejsca (BOX2 i STAT) konieczne dla sygnalizacji STAT 3. Rozpuszczalna izoforma receptora Lepr-e - Re nie posiada domeny transbłonowej (na podstawie Mc Minn 2003).

Leptyna poprzez swój receptor aktywuje związane z nim kinazy tyrozynowe Janusa (JAK; *Janus tyrosine kinase*), które fosforylują tyrozyny na cytoplazmatycznej części receptora, do której wiążą się czynniki transkrypcyjne STAT 3 (*signal transducer and activator of transcription 3*). Po fosforylacji aktywne czynniki STAT oddzielają się od receptora, tworzą dimery i przemieszczają się do jądra komórkowego, aby indukować specyficzne geny. Oprócz drogi JAK-STAT leptyna może aktywować również inne ścieżki: poprzez kinazę aktywowaną mitogenem (MAPK) i kinazę fosfoinozytolu (PI3K). Białka SOCS (*suppressors of cytokine signalling*) hamują przekazanie receptora leptyny (Ryc. I.6.) [111].



Ryc. I.6. Działanie receptorowe leptyny (na podstawie Garofalo 2006).

Na początku większość prac dotyczyła wpływu leptyny na centralny układ nerwowy, ponieważ w podwzgórzu stwierdza się najwyższą ekspresję jej receptora, przez który reguluje ona homeostazę energetyczną organizmu. Jednak ekspresja różnych form receptora leptyny nie ogranicza się tylko do podwzgórza, ale obecność receptora leptyny stwierdzono również w innych tkankach i narządach: wątrobie, gruczołach piersiowych, jajnikach, trzustce, prostaty, płucach, nerce, nadnerczach, endometrium, łożysku, jądrach, jelicie cienkim oraz na komórkach układu odpornościowego [108, 112]. Ekspresja receptora leptyny zarówno w ośrodkowym układzie nerwowym, jak i w tkankach obwodowych świadczy o jej prawdopodobnym pleiotropowym działaniu, które nie zostało jeszcze w pełni poznane.

Leptyna odgrywa bardzo istotną rolę w regulacji poboru żywności, wydatku energetycznego i masy ciała [113]. Regulacja ta polega na zmniejszaniu łaknienia, głównie przez hamowanie syntezy podwzgórzowego neuropeptydu Y, który jest głównym stymulatorem poboru pożywienia [113]. W organizmie leptyna spełnia rolę „lipostatu”, poprzez regulację łaknienia i wydatku energetycznego w odpowiedzi na zmianę wagi ciała. Poziom leptyny w surowicy koreluje z zawartością tkanki tłuszczowej w organizmie i wiadomo, że jest podwyższony u pacjentów otyłych [114], a obniżony u osób z jadłowstrętem psychicznym [115, 116].

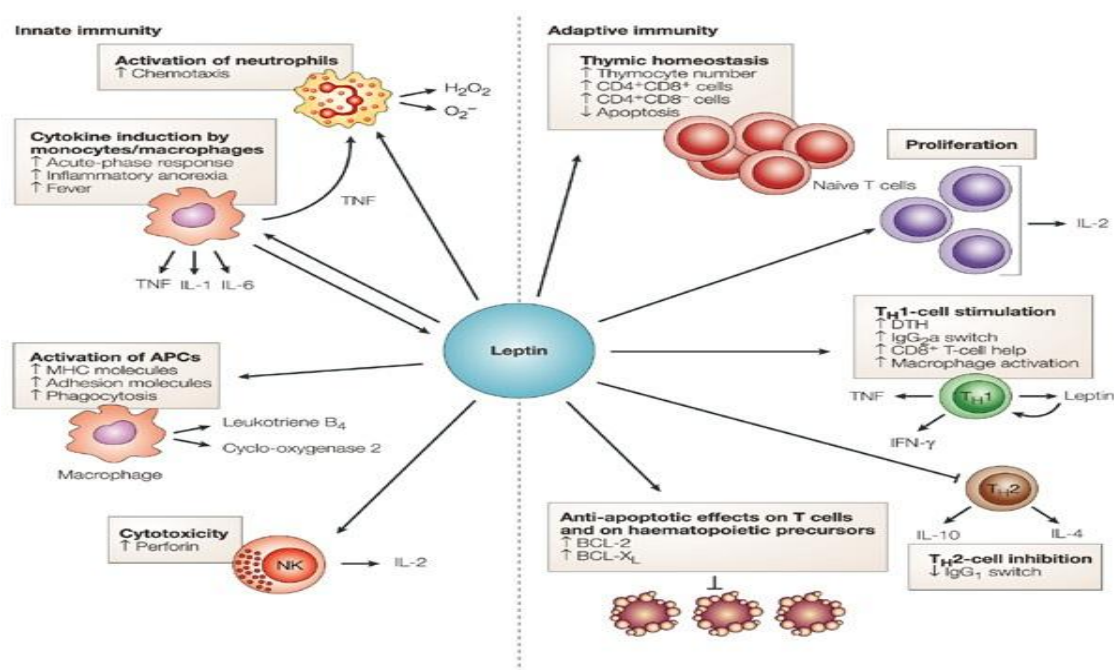
Jednakże większość ludzi otyłych charakteryzuje się raczej wysokim poziomem leptyny w surowicy, który jednak nie hamuje u nich łaknienia. Zjawisko to tłumaczy hipoteza, że większość ludzi z problemem nadwagi jest oporna na endogenną leptynę [117, 118]. Leptyna bierze także udział w wielu procesach fizjologicznych innych niż homeostaza energetyczna i kontrola wagi. Może ona wpływać na sekrecję FSH, LH, TSH, ACTH, kortyzolu i hormonu wzrostu [108]. W wielu z tych funkcji pośredniczy ośrodkowy układ nerwowy, jednak obecność receptorów leptyny w innych tkankach może sugerować, iż wywiera ona bezpośredni wpływ na poszczególne komórki organizmu [114]. Wykazano również, że leptyna może sprzyjać agregacji płytek krwi i wzrostowi stresu oksydacyjnego w kulturze komórek śródbłonna oraz podnosić może ona aktywność układu sympatycznego i prowadzić do podwyższonych wartości ciśnienia tętniczego i częstości akcji serca [119]. Te działania leptyny mogą być przyczyną zwiększonego ryzyka rozwoju powikłań naczyniowo-sercowych [120].

Dotychczas opublikowano różne doniesienia na temat roli leptyny w otyłości, insulinooporności, hiperinsulinizmie i cukrzycy typu 2 [114, 121, 122].

Już w 1998 roku Lord w swoich badaniach zasugerował, iż leptyna może być kluczem łączącym stan odżywienia z odpowiedzią immunologiczną [123]. W ciągu ostatnich lat coraz więcej doniesień dowodzi, iż leptyna może także odgrywać niezwykle istotną rolę w funkcjonowaniu układu odpornościowego poprzez bezpośrednie działanie zarówno w mechanizmach odporności wrodzonej jak i nabytej [124]. W reakcjach odporności nabytej leptyna może powodować aktywację proliferacji limfocytów B, stymulować komórki dendrytyczne (DC) do dojrzewania oraz hamować ich apoptozę. Z kolei na monocyty i makrofagi działa ona jak chemotaktant [125], zwiększając ich proliferację i zdolności fagocytarne, razem ze zwiększoną produkcją cytokin prozapalnych (IL-1, IL-6, TNF- α). W makrofagach natomiast adipocytokina ta dodatkowo może nasilać produkcję tlenku azotu (NO; *nitric oxide*), leukotrienu B₄ (LTB₄) i cyklooksygenazy 2 (COX-2). Ponadto wykazano, że leptyna jest niezbędna dla dojrzewania komórek NK, ponieważ jest ona zaangażowana we wszystkie procesy w trakcie ich rozwoju, tj. różnicowanie, proliferację i aktywację [125]. Stwierdzono również, że zwiększa

ona cytotoksyczność komórek NK oraz produkcję IL-2 [126].

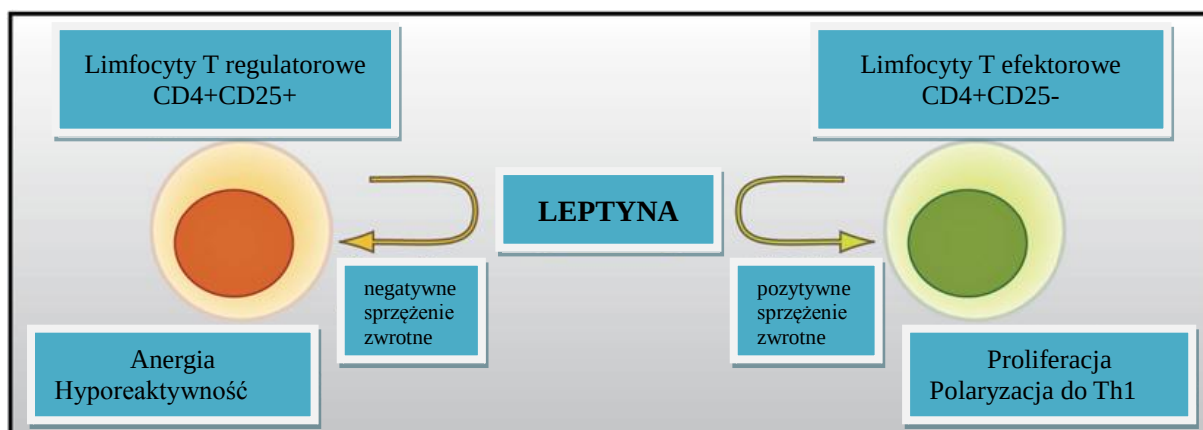
Doniesienia ostatnich lat wskazują, że leptyna pełni również istotną rolę w homeostazie grasiczej, poprzez działanie antyapoptyczne oraz podtrzymanie dojrzewania grasicy (dojrzewanie tymocytów i hamowanie ich apoptozy) [124]. Leptyna pobudza proliferację i hamuje apoptozę naiwnych limfocytów T. W nielicznych jeszcze pracach wykazano, że aktywuje ona komórki Th1 przy jednoczesnym działaniu hamującym na komórki Th2. Stwierdzono, iż w komórkach T pamięci leptyna hamuje ich anty CD3-zależną proliferację, ale z kolei stymuluje produkcję interferonu γ [124]. Kolejne badania dotyczące funkcji leptyny wykazały, że zwiększa ona produkcję cytokin prozapalnych [123].



Ryc. I.7. Efekty działania leptyny na wrodzoną i nabytą odpowiedź immunologiczną
(na podstawie La Cava 2004)

Leptyna za pośrednictwem swojego receptora na limfocytach $CD4^+$ wiąże się z komórkami $CD4^+CD25^-$ oraz $CD4^+CD25^+$ [128]. Prowadzi ona do anergii i hiporeaktywności komórek T regulatorowych ($CD4^+CD25^+$) oraz powoduje polaryzację i pobudzenie proliferacji komórek T efektorowych ($CD4^+CD25^-$) w kierunku Th1, czego rezultatem jest zwiększenie produkcji cytokin prozapalnych,

które później aktywują produkcję leptyny i synergistycznie nasilają działanie tej adipocytokiny [128]. Wiązanie leptyny powoduje zwiększenie jej ekspresji i jej receptora w obu typach komórek, a przeciwstawny efekt działania leptyny na komórki T regulatorowe i efektorowe promuje odpowiedź zapalną.



Ryc. I.8. Przeciwny efekt działania leptyny na limfocyty T efektorowe i regulatorowe (zmodyfikowano na podstawie Hasenkrug KJ 2007)

Potwierdzeniem działania leptyny na układ immunologiczny są prace na temat pacjentów chorych na stwardnienie rozsiane, reumatoidalne zapalenie stawów, autoimmunologiczne zapalenie tarczycy i toczeń rumieniowaty. Autorzy prac sugerują, że wysoki poziom leptyny może być czynnikiem nasilającym proces rozwoju tych chorób [129, 130, 131] lub markerem ich aktywności [132]. W badaniach prowadzonych przez Matarese na myszach NOD podwyższony poziom leptyny prowadził do ujawnienia się autoimmunologicznej postaci cukrzycy [133]. Po zastosowaniu u nich iniekcji z leptyny doszło do zwiększenia produkcji interferonu γ w obwodowych limfocytach T oraz aktywacji odpowiedzi autoimmunologicznej typu Th1 prowadząc do destrukcji komórek β trzustki [133]. W ciągu ostatnich lat zaobserwowano istotną korelację pomiędzy poziomem leptyny a końcowymi produktami glikacji (AGEs), które odgrywają znaczącą rolę w powstawaniu późnych powikłań w przebiegu cukrzycy, w tym nefropatii i retinopatii cukrzycowej [134].

Autorzy niezbyt licznych jeszcze prac sugerują, że leptyna może wpływać na proces angiogenezy poprzez indukowanie nabłonkowego czynnika wzrostu (VEGF, *vascular endothelial growth factor*) i supresję PEDF (*pigment epithelium-derived factor*) oraz produkcję wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu (ROS, *reactive oxygen species*) w komórkach nabłonka naczyń siatkówki [135, 136].

Wolf i wsp. stwierdzili, że leptyna poprzez stymulację syntezy TGF- β 1 i kolagenu typu IV może brać udział we wczesnym okresie rozwoju nefropatii cukrzycowej [137].

Leptyna jest więc cytokiną o plejotropowym działaniu i prawdopodobnie może mieć wpływ zarówno na rozwój cukrzycy typu 1, jak i późnych powikłań naczyniowych w trakcie jej trwania. Ale specyficzny wpływ leptyny na rozwój mikroangiopatii cukrzycowej nie jest w pełni wyjaśniony i wciąż jest przedmiotem badań.

1.7.2. ADIPONEKTYNA

Adiponektynę odkryto w 1995 roku i, podobnie jak leptyna, należy do grupy adipocytokin. Stanowi ona około 0,01% całkowitego białka osocza. Poziom adiponektyny jest stały i raczej nie podlega wahaniom dobowym [104]. Jest produkowana przez dojrzałe adipocyty głównie w obwodowej tkance tłuszczowej, w nieco mniejszym stopniu w trzewnej, w kardiomiocytach, mięśniach szkieletowych, wątrobie oraz w śródbłonku naczyń krwionośnych [104]. Adiponektyna jest 28KDa białkiem, składa się z 244 aminokwasów i jest produktem genu zlokalizowanego na chromosomie 3q27 i ma podobną strukturę do TNF- α , kolagenu VIII i IX oraz składowej C1q dopełniacza. Adiponektyna w surowicy występuje w podstawowych jednostkach - monomerach, a także niskocząsteczkowych trimerach, powstałych z połączenia trimerów heksametrach oraz kompleksach o dużej masie (HMW, *high molecular weight isoform*), które utworzone są z połączeń heksametrów. Kompleksy o dużej masie odgrywają najistotniejszą rolę w działaniu metabolicznym adiponektyny [104]. Biologiczny efekt działania adiponektyny zależy od jej stężenia, obecności różnych izoform jej receptora, a także tkankowo specyficznej ekspresji podtypów jej receptora. Dotychczas opisane zostały

dwa typy receptora dla adiponektyny AdipoR1, który występuje głównie w mięśniach szkieletowych oraz AdipoR2 głównie zlokalizowany w wątrobie i mózgu [138]. Oba te typy receptora znajdują się w wysepkach trzustki i podwzgórzu, jednak nie został potwierdzony wpływ ich aktywacji na wydzielanie insuliny oraz hamowanie martwicy komórek β trzustki [139]. Receptory adiponektyny stwierdzono także na makrofagach, osteoblastach, adipocytach oraz komórkach śródbłónka i mięśni naczyń [140]. Wiadomo, że główną rolę w efektach działania adiponektyny odgrywa droga związana z AMPK (*AMP-activated protein kinase*). Wykazano ponadto, że w powyższych efektach udział ma również regulacja Akt, p38, ERK (*extracellular-signal-regulated kinase*), cAMP i NF- κ B (*nuclear factor κ B*) oraz generacja ROS (*reactive oxygen species*) przez adiponektynę [141].

W odróżnieniu od innych adipocytokin, których stężenie wzrasta w otyłości, cukrzycy typu 2 i insulinoporności stężenie adiponektyny obniża się w przebiegu tych schorzeń, zarówno u osób dorosłych, jak i prawdopodobnie u dzieci [142].

Jedną z głównych funkcji adiponektyny jest zwiększenie insulinowrażliwości. W mięśniach adiponektyna pobudza wychwyt glukozy oraz oksydację kwasów tłuszczowych poprzez zwiększenie aktywności receptora insulinowego typu 1 (IRS1). Zwiększa ona także insulinowrażliwość hepatocytów, poprzez zmniejszenie napływu wolnych kwasów tłuszczowych, zwiększenie ich oksydacji, obniżenie wątrobowego wychwyty glukozy i zmniejszenie glukoneogenezy [142]. Hipoadiponektynemia jest wskaźnikiem rozwoju otyłości, nadciśnienia tętniczego krwi, zmian naczyniowych, insulinoporności oraz cukrzycy typu 2 u dorosłych i dzieci [143]. Ostatnio podkreśla się fakt, iż stężenie adiponektyny jest odwrotnie proporcjonalne do wskaźnika proinsulina/insulina, markera uszkodzenia komórek β trzustki. W nielicznych jeszcze pracach wskazuje się, że obniżone stężenie adiponektyny może być nie tylko markerem insulinoporności, ale także dysfunkcji komórek β trzustki [144].

Jak wykazano w badaniach *in vitro* adiponektyna ma działanie antyaterogenne, poprzez hamowanie adhezji monocytów do komórek śródbłónka oraz transformacji makrofagów do komórek piankowatych (przez zmniejszenie ekspresji receptora „scavenger”) [145] oraz przez aktywację komórek śródbłónka

(przez zmniejszoną produkcję molekul adhezyjnych i hamowanie TNF- α oraz czynnika transkrypcyjnego NF κ B) [146]. Potwierdzeniem tego są badania Diez i wsp., w których również wykazano, że w ścianach naczyń krwionośnych adiponektyna hamuje przyleganie monocytów do komórek śródbłonna poprzez zmniejszenie ekspresji białek adhezyjnych oraz hamuje transformację makrofagów w komórki piankowate, zmniejsza proliferację komórek mięśni gładkich i zwiększa syntezę tlenu azotu oraz stymuluje angiogenezę [147].

W badaniach *in vitro* stwierdzono, iż TNF- α hamuje ekspresję genu adiponektyny przez supresję czynnika jądrowego NF κ B, pobudzanego przez adiponektynę. W badaniach u ludzi stwierdzono, iż u osób z wysokim stężeniem mRNA adiponektyny jest obniżona sekrecja TNF- α w tkance tłuszczowej, natomiast narastająca insulinooporność oraz wzrost masy tkanki tłuszczowej zwiększa ekspresję TNF- α , a to prowadzi do obniżenia stężenia adiponektyny [140]. Dodatkowo udowodniono, że adiponektyna bezpośrednio pobudza produkcję cytokiny przeciwzapalnej IL-10 przez makrofagi [148] i zmniejsza produkcję cytokin prozapalnych TNF- α i IL-6 [149, 150, 152]. W ostatnich latach wykazano, iż stężenia adiponektyny są zmienne u pacjentów z toczeniem rumieniowatym układowym (SLE) w zależności od stopnia zaawansowania choroby [150]. Rovin i wsp. wykazali wyższe stężenia adiponektyny u pacjentów z SLE przebiegającym z zajęciem nerek w porównaniu z pacjentami z SLE, u których nerki nie były objęte procesem chorobowym oraz w porównaniu z grupą osób zdrowych. [151]. Sugeruje się, że adiponektyna mogłaby być markerem stopnia zaawansowania choroby u osób z SLE [151].

W odniesieniu do relacji pomiędzy rolą adiponektyny a funkcją nerkek, Iwashima i wsp. stwierdzili, iż jest ona istotnym regulatorem stężenia adiponektyny na etapie przewlekłej choroby nerek [153].

Wysunięto hipotezę, że adiponektyna może regulować polaryzację makrofagów w kierunku ich fenotypu antyzapalnego (M2) i tym sposobem hamować progresję chorób metabolicznych i sercowo-naczyniowych [179].

Natomiast rola adiponektyny w przebiegu cukrzycy typu 1 nie jest dotychczas w pełni wyjaśniona. Fakt ten jest zachętą do podjęcia prac badawczych, w których oceniano by wpływ tej adipocytokiny zarówno na przebieg kliniczny jak i rozwój późnych powikłań u chorych z rozpoznaną cukrzycą typu 1.

Poszukuje się odpowiedzi na pytanie czy oznaczenie i udokumentowanie dodatkowych czynników, jakimi są leptyna i adiponektyna, pozwoli na wcześniejsze ustalenie ryzyka wystąpienia późnych powikłań u określonego pacjenta oraz na ile stosowana terapia, w tym wyrównanie metaboliczne pacjenta, pozwoli na opóźnienie ich wystąpienia.

II. CEL PRACY

Celem niniejszej pracy jest ocena stężenia leptyny i adiponektyny w surowicy krwi oraz znalezienie i zbadanie związku pomiędzy tymi adipocytokinami a wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi u dzieci z cukrzycą typu 1.

Cel pracy realizowano poprzez:

1. Ocenę wpływu leptyny i adiponektyny na zaburzenia metaboliczne występujące u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1
2. Ocenę związku pomiędzy poziomem leptyny i adiponektyny a rozwojem nefropatii i retinopatii cukrzycowej oraz poziomem wyrównania metabolicznego choroby u dzieci z długotrwałą cukrzycą typu 1

III. MATERIAŁ I METODY

III.1. MATERIAŁ

III.1.1. GRUPA BADANA

Badaniem objęto pacjentów hospitalizowanych na Oddziale Diabetologii Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii oraz będących pod opieką Przyklinicznej Poradni Cukrzycowej dla Dzieci i Młodzieży Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2007-2010. Do badania włączono pacjentów, u których postawiono rozpoznanie cukrzycy typu 1 na podstawie kryteriów Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego (*American Diabetes Association*) [2].

Do badania włączono 75 pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, w wieku $9,65 \pm 4,05$ lat, oraz 115 pacjentów z cukrzycą typu 1, trwającą $6,05 \pm 3,25$ lat, w wieku $14,37 \pm 3,13$ lat.

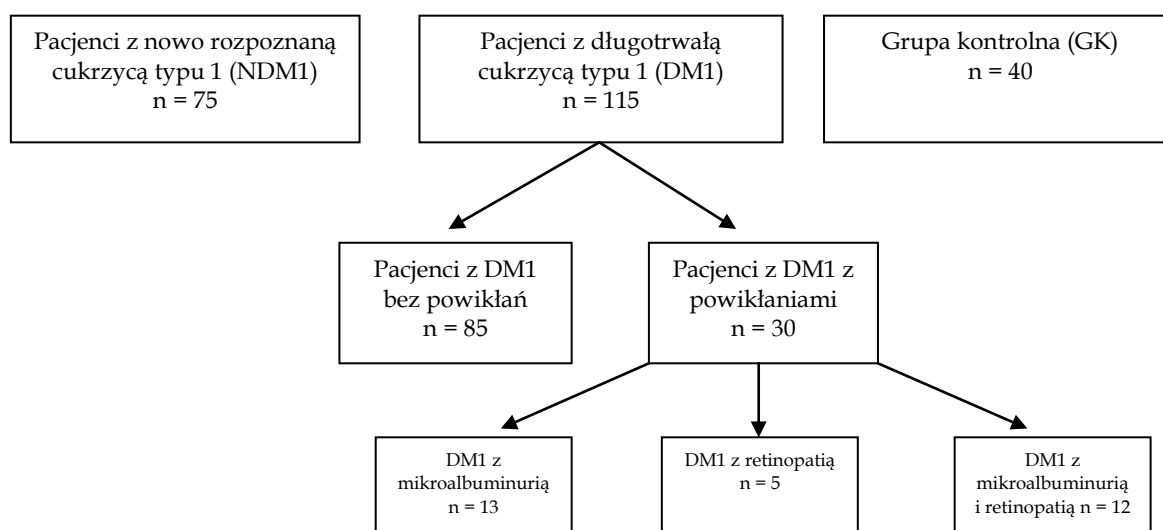
Z badania wykluczono pacjentów, u których na podstawie badania klinicznego oraz wyników badań biochemicznych, bakteriologicznych i immunologicznych rozpoznano towarzyszące choroby układu oddechowego, wątroby, układu moczowego oraz inne choroby o podłożu autoimmunologicznym celem uniknięcia wpływu dodatkowych chorób na wyniki badań.

Wyniki uzyskane u pacjentów z cukrzycą typu 1 odniesione zostały do grupy kontrolnej. Kontrolną grupę stanowiło 40 zdrowych dzieci, odpowiednio dobranych pod względem wieku ($12,86 \pm 3,94$ lat). W grupie kontrolnej na podstawie wywiadu, badania klinicznego oraz badań biochemicznych (C-peptydu i HbA_{1c}) i immunologicznych wykluczono wyżej wymienione choroby oraz cukrzycę typu 1. W wywiadzie zarówno u dzieci z cukrzycą typu 1, jak i zdrowych, w czasie ostatnich 8–10 tygodni przed badaniem nie stwierdzono infekcji.

Z badanych grup wykluczono ponadto kilkoro dzieci, z indeksem masy ciała, określonym jako BMI (*body mass index*, [kg/m²]) wynoszącym powyżej 95 centyla dla wieku i płci, aby uniknąć wpływu BMI na badany poziom adipocytokin.

Pacjenci z cukrzycą typu 1 leczeni byli insulinami ludzkimi albo analogami insuliny metodą intensywnej insulinoterapii za pomocą penów lub ciągłego podskórnego wlewu insuliny osobistą pompą insulinową. U chorych z cukrzycą typu 1 i stwierdzoną albuminurią zastosowano inhibitory konwertazy angiotensyny.

Pacjenci zakwalifikowani do badania zostali podzieleni na następujące grupy.



Na realizację badania uzyskano zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej do spr. Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym (NKEBN/**26**/2008). Przed włączeniem dziecka do badania uzyskiwano zgodę zarówno od dziecka, jak i od jego rodziców.

III.1.2. MATERIAŁY JEDNORAZOWEGO UŻYTKU

Zestaw ELISA – leptyna Human Leptin Immunoassay R&D System

Zestaw ELISA – adiponektyna Human Adiponectin Immunoassay R&D System

Końcówki do pipet (Medlab, Polska)

Pipety jednorazowe typu balonik (pasterowskie) (Sigma, USA)

Probówki typu Eppendorf 1,5ml (Medlab, Polska)

III.1.3. APARATURA

Pipety automatyczne (MedLab, Polska)

Wirówka (Sigma 3K15, Sigma 4K15, Centrifuge MPW310, Polska)

Zamrażarka -70°C 550H (Polar, Polska)

Czytnik MultiSCAN MCC/340 (Labsystems, Helsinki, Finlandia)

III.2. METODY

III.2.1. BADANIE PODMIOTOWE I PRZEDMIOTOWE (DANE KLINICZNE)

W badaniu podmiotowym zebrano następujące dane pacjentów: płeć, wiek, czas trwania choroby oraz dobowe zapotrzebowanie na insulinę. Zapotrzebowanie na insulinę oceniano jako średnią wartość liczby jednostek insuliny wstrzykiwanej przez pacjenta w ciągu trzech dni poprzedzających dzień badania. Dawkę insuliny przeliczano na jednostkę masy ciała na dobę (j/kg/dobę), bez podziału na rodzaj stosowanej insuliny.

Do analiz statystycznych użyto następujących danych z badania przedmiotowego: wysokość ciała, masa ciała, BMI, ciśnienie tętnicze krwi oraz stopień dojrzewania płciowego. Pomiar wysokości i masy ciała wykonywano w godzinach rannych, na czczo, w białej bieliźnie używając wagi lekarskiej i stadiometru typu Harpenter. Wysokość ciała określano z dokładnością do 0,1 cm, a masę ciała do 100 gramów. Wskaźnik masy ciała BMI (*Body Mass Index*, obliczony ze wzoru: $BMI = \text{masa ciała [kg]} / \text{wysokość ciała [m]}^2$). Wykonano trzykrotny pomiar ciśnienia tętniczego w spoczynku odpowiednio dobranym mankietem, z którego wyciągnięto wartość średnią. Średnie wartości ciśnienia tętniczego u dzieci oceniono w oparciu o siatki centylowe opracowane przez Borowskiego i wsp. [154]. U pacjentów, u których wartości ciśnienia tętniczego krwi przekraczały 95 percentyl dla płci i wzrostu wykonywano automatyczny całodobowy pomiar ciśnienia tętniczego (ABPM, *ambulatory blood pressure monitoring*). Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano, jeśli w badaniu ABPM co najmniej 30% pomiarów ciśnienia skurczowego lub rozkurczowego przekraczało 95 centyl określonych

norm przyjętych dla płci i percentyla wzrostu.

Stopień zaawansowania pokwitania określano według skali Tannera i Whitehousa, oceniając wielkość jąder i moszny u chłopców, a piersi u dziewcząt oraz rozwój owłosienia łonowego u obu płci.

III.2.2. BADANIA BIOCHEMICZNE

Badania biochemiczne u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 zostały wykonane po 10 dobach od ujawnienia się cukrzycy typu 1, całkowitym wyrównaniu zaburzeń w zakresie równowagi kwasowo-zasadowej oraz profilu glikemii. Natomiast w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 w ciągu miesiąca poprzedzającego badanie nie stwierdzono zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej.

Poziom wyrównania metabolicznego cukrzycy oceniano za pomocą poziomu hemoglobiny glikowanej (HbA_{1c}) oznaczanego metodą immunoturidimetryczną za pomocą Unimate 3 set (Hoffmann-La Roche AG, Basel, Switzerland).

Stężenie białka C-reaktywnego (CRP, *C-reactive protein*) oznaczano za pomocą testu firmy Beckman Instr. Galvay, Ireland. Badanie stężenia cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL- i HDL-cholesterolu i trójglicerydów wykonano używając zestawów CORMAY, Lublin, Polska.

We wszystkich badanych grupach wykonano badanie dobowego wydalania albuminy w moczu metodą immunoturbidimetryczną za pomocą testu Tina-quant® (Boehringer Mannheim GmbH, Germany). Mikroalbuminurię stwierdzano, gdy wydalanie albuminy w moczu wynosiło 30–299 mg/dobę w dwóch z trzech próbek jałowego moczu, zbieranego w ciągu 6 miesięcy przez pacjenta z wyrównaną cukrzycą oraz bez klinicznych i laboratoryjnych cech kwasicy ketonowej [1].

Ponadto u badanych osób wykonano morfologię krwi obwodowej, za pomocą cytometru przepływowego LH 750 Analizer (Coulter, USA) lub CELL-DYN 3200 (Abbott Laboratories, France) oraz oznaczono poziom kreatyniny w surowicy, aktywność aminotransferazy alaninowej i asparaginowej, sodu, potasu, wapnia, fosforu, magnezu.

Dodatkowo u wszystkich pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 wykonano badanie poziomu C-peptydu na czczo i miana przeciwciał przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego metodą immunoenzymatyczną ELISA oraz, w momencie przyjęcia na Oddział, gazometrię krwi włośniczkowej za pomocą aparatu ABL 800 FLEX firmy Radiometer.

Badane stężenie C-peptydu u wszystkich dzieci z cukrzycą wynosiło poniżej 0,5 ng/ml.

Badania biochemiczne wykonano w Uniwersyteckim Centrum Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

III.2.3. BADANIE OKULISTYCZNE

U wszystkich pacjentów z przewlekłą cukrzycą typu 1 zostało wykonane badanie okulistyczne zgodnie z obowiązującą klasyfikacją [155]. Po podaniu 1% Tropicamidu do worka spojówkowego badanie dna oka wykonane zostało soczewką +90D (Ocular Instruments, USA). Przedni odcinek gałki ocznej oceniony był za pomocą lampy szczelinowej (TOPON SL-8Z, JAPONIA). U pacjentów z cukrzycą typu 1 trwającą ponad 5 lat dodatkowo wykonywano angiografię fluoresceinową (FL-A) kamerą cyfrową (TOPON IMAGENET 2000, JAPONIA).

Okulistyczna ocena pacjentów przeprowadzono była w Klinice Chorób Oczu Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

III.2.4. BADANIA IMMUNOLOGICZNE W KIERUNKU CHOROBY TRZEWNEJ I AUTOIMMUNOLOGICZNEGO ZAPALENIA TARCZYCY

Celem wykluczenia współistniejących z DM 1 autoimmunologicznych chorób, choroby trzewnej i autoimmunologicznego zapalenia tarczycy [156], u wszystkich badanych chorych wykonano oznaczenie poziomu przeciwciał przeciwgliadynowych (AGA, *antigliadin antibodies*) w klasie IgA i IgG, przeciw transglutaminazie tkankowej (TGA, *tissue transglutaminase antibodies*) w klasie IgA

metodą immunoenzymatyczną (ELISA), przeciw endomysium mięśni gładkich (EmA) w klasie IgA i IgG metodą immunofluorecencyjną. Wykonano także badanie poziomu hormonów tarczycy (TSH, fT4, fT3), poziomu przeciwciał przeciw tyreoglobulinie (TG-Ab, *antytyreoglobulin antibodies*) oraz przeciw peroksydazie tarczycowej (TPO-Ab, *anti-thyroid peroxidase antibodies*) metodą ELISA na zestawach komercyjnych Hycor Biomedical, Inc. (San Diego, USA i Orgentec Diagnostyka Niemcy). Badania immunologiczne w kierunku autoimmunologicznego zapalenia tarczycy oraz choroby trzewnej wykonane zostały w Zakładzie Immunologii Klinicznej i Transplantologii Katedry Immunologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

U wszystkich pacjentów z cukrzycą typu 1 wykonywano także badanie ultrasonograficzne tarczycy w Pracowni Ultrasonografii Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii.

III.2.5. UZYSKIWANIE MATERIAŁU BIOLOGICZNEGO

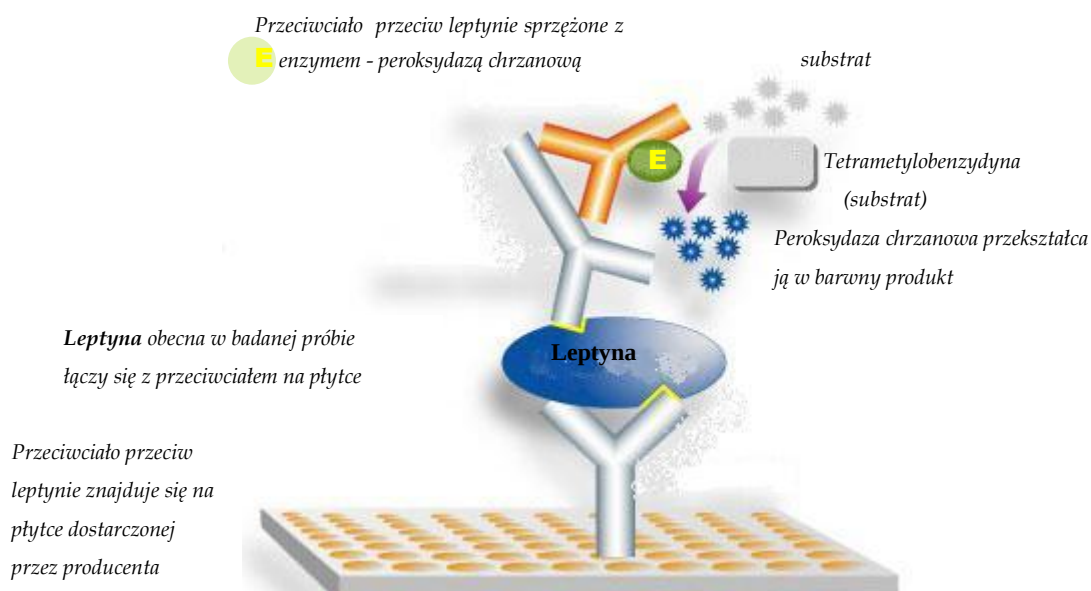
W celu uzyskiwania surowicy krwi od osób badanych, potrzebnej do wykonania analiz, pobierano po 2 ml krwi żyłnej od pacjentów z cukrzycą typu 1 i od dzieci z grupy kontrolnej. Krew do badań pobierana była na czczo, w godzinach porannych, do próbek biochemicznych bez antykoagulantu. Wszystkie pobrania krwi wykonane były przy okazji wykonywania innych badań biochemicznych. Uzyskaną krew, po wykrzepieniu, wirowano przez 15 minut, przy prędkości 2500 obrotów/minutę (3K15, 4K15 Signa, USA). Uzyskaną w ten sposób surowicę krwi, oddzielano od skrzepu i w jałowych warunkach (w komorze z laminarnym, pionowym przepływem powietrza Hareus, USA) przenoszono do sterylnych próbek typu Ependorf w objętości około 500 µl. Zebrane surowice krwi, pobrane od pacjentów z cukrzycą typu 1 oraz od dzieci z grupy kontrolnej, przechowywane były do dalszych analiz w temperaturze -70 °C (chłodziarka POLAR 550H).

III.2.6. TESTY IMMUNOENZYMATYCZNE ELISA W SUROWICY KRWI: LEPTYNA I ADIPONEKTYNA

U wszystkich badanych dzieci oznaczono stężenie leptyny i adiponektyny metodą immunoenzymatyczną (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*).

Badania poziomu adipocytokin wykonane zostały w Zakładzie Immunologii Katedry Immunologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (Kierownik: prof. dr hab. med. Jolanta Myśliwska).

Dla każdej z badanych adipocytokin wykonane zostały testy immunoenzymatyczne ELISA przy użyciu komercyjnych zestawów firmy R&D Systems Minneapolis, USA, według zaleceń producenta. Zasada przebiegu testu ilościowego oznaczania badanych adipocytokin przedstawiono na przykładzie leptyny na rycinie III.1.



Ryc. III.1. Procedura działania testów immunoenzymatycznych ELISA na przykładzie zestawu do oznaczania leptyny (źródło: www.gbichina.com).

III.2.6.1. LEPTYNA Human Leptin Immunoassay R&D System

Każdy zestaw składał się z 96-dołkowej płytki opłaszczanej przeciwciałami monoklonalnymi skierowanymi przeciwko leptynie. Przed nakładaniem na płytkę próbek, do każdego z dołków dodano dokładnie po 100 μ l roztworu rozcieńczającego (Assay Diluent RD1-19). Po czym na płytkę naniesiono po 100 μ l wszystkich stężeń standartów producenta jak również odpowiednio rozcieńczone surowice dzieci z cukrzycą typu 1 oraz dzieci zdrowych. Każde oznaczenie wykonywano w dwóch powtórzeniach. Przygotowaną tak płytkę inkubowano przez czas 2 godzin w temperaturze pokojowej. Po czym każdy dołek na płytce płukano cztery razy buforem (Wash Solution firmy R&D). Następnie dodawane było po 200 μ l koniugatu przeciwciał, sprzężonych z peroksydazą chrzanową, skierowanych przeciw leptynie. Po godzinnej inkubacji w temperaturze pokojowej, wszystkie dołki ponownie przepłukiwano, a następnie do każdego dołka dodano po 200 μ l substratu dla peroksydazy chrzanowej (TMB-tetrametyl-benzydyna). Dokładnie po 30-minutowej inkubacji w ciemni dodawano po 50 μ l kwasu siarkowego (Stop Solution). Odczytu pomiaru absorbancji produktu barwnego reakcji enzymatycznej dokonywano przy długości fali 450 nm na czytniku (MultiSCAN MCC/340 Labsystems, Helsinki, Finlandia). Na podstawie zmierzonej, w dołkach z roztworami standardowymi, absorbancji tworzący krzywą standardową i według niej obliczano poziomy badanych cytokin w badanych surowicach krwi.

III.2.6.2. ADIPONEKTYNA Human Adiponectin Immunoassay R&D System

Każdy zestaw zawierał 96-dołkową płytkę, która opłaszczona była przeciwciałami monoklonalnymi skierowanymi przeciwko adiponektynie. Przed nakładaniem badanych próbek, na każdy dołek dodano po 100 μ l roztworu rozcieńczającego (Assay Diluent RD1-W). Po czym na płytkę naniesiono po 50 μ l standartów producenta, a także badane surowice pacjentów oraz surowice dzieci zdrowych. Każde oznaczenie wykonywano w dwóch powtórzeniach. W ten sposób przygotowaną płytkę poddano inkubacji przez 2 godziny w temperaturze pokojowej. Potem wszystkie dołki przepłukano czterokrotnie buforem (Wash

Solution firmy R&D). Następnie dodano po 200 μ l koniugatu z przeciwciałami, sprzężonych z peroksydazą chrzanową, skierowanych przeciwko adiponektynie. Po dwóch godzinach inkubowania płytki w temperaturze pokojowej, wszystkie dołki przepłukano ponownie, następnie do wszystkich z nich dodano po 200 μ l substratu dla peroksydazy chrzanowej (TMB-tetrametyl-benzydyna). Następnie po trzydziestominutowej inkubacji bez dostępu światła dodano po 50 μ l kwasu siarkowego (Stop Solution). Następnie zmierzono absorbancję barwnego produktu reakcji enzymatycznej falą długości 450 nm na czytniku (MultiSCAN MCC/340 Labsystems, Helsinki). Na podstawie absorbancji mierzonej w poszczególnych dołkach ze standardami stworzono krzywą standardową i na jej podstawie wyliczono poziomy adiponektyny w surowicach krwi.

III.2.7. METODY STATYSTYCZNE

Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej celem jednoznacznego opisu oraz sprawdzenia postawionych hipotez dotyczących badanych grup. Zmienne o ciągłym charakterze oceniano pod względem zgodności ich rozkładu z rozkładem normalnym za pomocą oceny histogramów oraz testem Kołmogorowa-Smirnowa. Po czym zmienne z rozkładem zgodnym z rozkładem normalnym poddano analizie metodami parametrycznymi. Aby ocenić różnice pomiędzy tymi zmiennymi używano testu t-Studenta oraz przeprowadzano analizę wariancji (ANOVA) z testami *post-hoc*. Korelacje jednoczynnikowe oceniane były metodą Pearsona, mierząc siłę związku korelacyjnego. Natomiast zmienne o rozkładzie odbiegającym od rozkładu normalnego poddawano analizie metodami nieparametrycznymi. Do porównywania dwóch zmiennych o charakterze ciągłym zastosowano test U Manna-Whitneya, a do porównania wielu zmiennych stosowano nieparametryczny test ANOVA rang Kruskala Wallisa. Ocenę siły związku zmiennych wykonywano za pomocą korelacji metodą Spearmanna.

Związki między zmiennymi skategoryzowanymi oceniano za pomocy testu χ^2 . W obecnej pracy przyjęto poziom istotności statystycznej $p < 0,05$.

Obliczenia statystyczne przeprowadzono przy użyciu programu komputerowego „Statistica 8.0” firmy Stat-Soft.

IV. WYNIKI

IV.1. PARAMETRY KLINICZNE I BIOCHEMICZNE U DZIECI Z CUKRZYCĄ TYPU 1 ORAZ W GRUPIE KONTROLNEJ

W początkowym etapie pracy przeprowadzono charakterystykę kliniczną i analizę parametrów biochemicznych u dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, z długotrwałą cukrzycą typu 1 i u dzieci zdrowych. Przedstawiono także stężenie badanych adiopocytokin, leptyny i adiponektyny, w poszczególnych badanych grupach.

IV.1.1. Charakterystyka kliniczna i biochemiczna dzieci z cukrzycą typu 1 oraz grupy kontrolnej

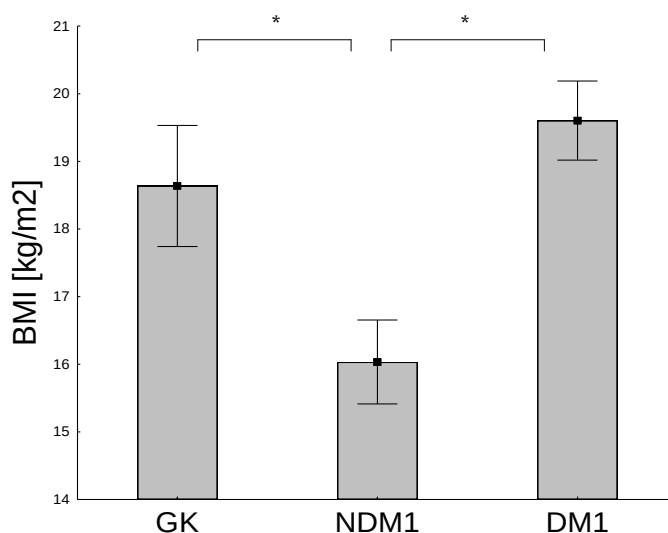
Analiza statystyczna wykazała, że dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 charakteryzowały się statystycznie znacząco niższym wskaźnikiem BMI w porównaniu z grupą kontrolną oraz długotrwałą DM 1. Natomiast wskaźnik BMI nie różni się istotnie pomiędzy grupą dzieci z długotrwałą typu 1 cukrzycą i grupą dzieci zdrowych. W dalszej analizie statystycznej stwierdzono istotnie statystycznie niższy poziom cholesterolu HDL w grupie dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 w porównaniu z grupą kontrolną. Z kolei pacjenci ze świeżo rozpoznaną, jak i z długotrwałą cukrzycą typu 1 charakteryzowali się wyższym poziomem cholesterolu całkowitego, oraz cholesterolu frakcji LDL w porównaniu z grupą kontrolną, jednak w zakresie tych parametrów nie uzyskano istotności statystycznej.

Ponadto pacjenci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 wykazywali wyższe stężenie białka C-reaktywnego, trójglicerydów, kreatyniny w surowicy krwi oraz wyższy poziom dobowego wydalania albuminy w moczu w porównaniu z grupą dzieci zdrowych, jednak nie uzyskano istotności statystycznej w zakresie tych różnic.

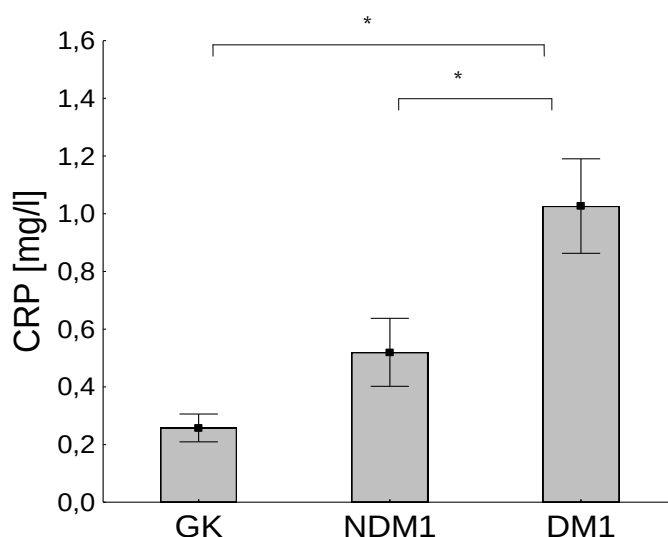
Dalsza analiza statystyczna wykazała, iż dzieci z przewlekłe trwającą cukrzycą typu 1 charakteryzowały się statystycznie znamionym wyższym poziomem białka C-reaktywnego, kreatyniny w surowicy krwi, albuminuri oraz istotnie wyższymi wartościami ciśnienia skurczowego i rozkurczowego krwi w porównaniu do grupy dzieci ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1, jak i zdrowych. Nie stwierdzono natomiast różnic istotnych statystycznie w wartości ciśnienia tętniczego zarówno skurczowego i rozkurczowego porównując grupę dzieci z nowo rozpoznana cukrzycą typu 1 z grupą dzieci zdrowych. Wykazano natomiast istotnie wyższy poziom trójglicerydów w grupie dzieci z długotrwałą cukrzycą typu 1 w odniesieniu do grupy dzieci zdrowych. Ponadto stwierdzono znamienne statystyczne różnice pomiędzy wszystkimi badanymi grupami w zakresie poziomu HbA_{1c}. Najwyższy poziom HbA_{1c} wykazano w grupie dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, najniższy w grupie kontrolnej (tab. IV.1; ryc. IV.1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8).

Parametr / Grupa badana	Pacjenci z NDM1 n = 75	Pacjenci z DM1 n = 115	Grupa kontrolna (GK) n = 40	p (ANOVA)	P ₁ (NDM1/GK)	P ₂ (DM1/GK)	P ₃ (NDM1/ DM1)
Wiek [lata]	9,65 ± 4,05	14,37 ± 3,13	12,86 ± 3,94	0,001*	0,00016*	0,09	0,00001*
Czas trwania cukrzycy [lata]	-----	6,05 ± 3,25	-----	-----	-----	-----	-----
BMI [kg/m ²]	15,83 ± 2,94	19,62 ± 3,31	18,89 ± 2,81	0,01*	0,01*	0,3	0,01*
HbA _{1c} [%]	11,99 ± 2,64	9,07 ± 2,21	5,18 ± 0,21	0,001*	0,00001*	0,00001*	0,0001*
Cholesterol całkowity [mg/dl]	172,13 ± 36,55	177,04 ± 31,11	169,05 ± 10,04	0,34	0,88	0,39	0,54
Cholesterol LDL [mg/dl]	108,41 ± 31,09	103,13 ± 26,76	98,32 ± 8,85	0,1	0,16	0,62	0,38
Cholesterol HDL [mg/dl]	47,56 ± 9,67	50,76 ± 10,35	53,00 ± 3,82	0,0064*	0,015*	0,44	0,05
Trójglicerydy [mg/dl]	87,24 ± 44,23	103,63 ± 63,77	64,05 ± 15,87	0,00013*	0,08	0,0004*	0,1
CRP [mg/l]	0,49 ± 0,5	1,057 ± 0,98	0,26 ± 0,15	0,00001*	0,29	0,000001*	0,000005*
Dobowe wydalenie albumin [mg/24h]	7,41 ± 4,85	20,65 ± 27,97	3,21 ± 2,07	0,00001*	0,54	0,00004*	0,00005*
Kreatynina w surowicy [mg/dl]	0,64 ± 0,11	0,74 ± 0,13	0,63 ± 0,13	0,00001*	0,94	0,000003*	0,000001*
Skurczowe ciśnienie krwi [mmHg]	104 ± 10	115 ± 11	106 ± 6	0,00001*	0,7	0,0002*	0,00001*
Rozkurczowe ciśnienie krwi [mmHg]	67 ± 8	71 ± 8	67 ± 4	0,0003*	0,86	0,04*	0,0003*

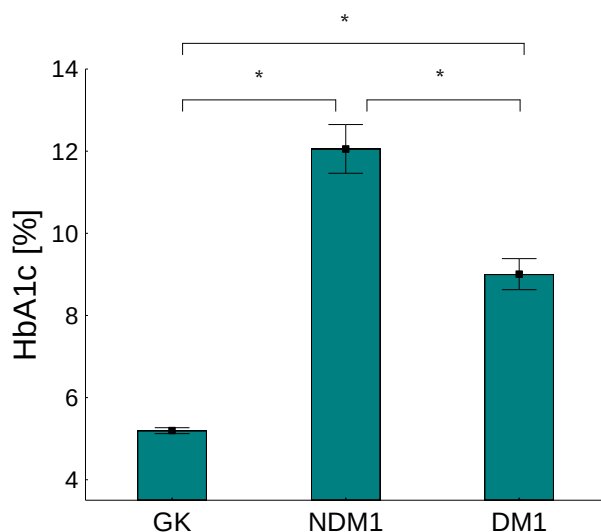
Tab. IV.1. Parametry kliniczne i biochemiczne dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1), długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) oraz w grupie kontrolnej (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie ± SD. n - liczba przypadków, BMI - indeks masy ciała, HbA_{1c} - hemoglobina glikowana, CRP - białko C reaktywne. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie (p<0,05) oznaczono symbolem „* ”.



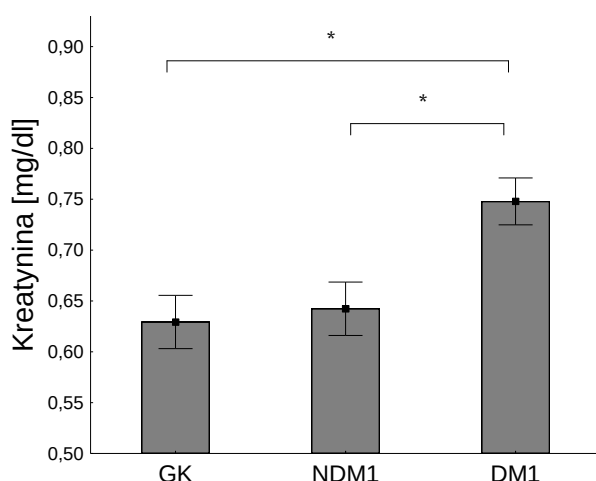
Ryc. IV.1. Indeks masy ciała (BMI) w grupie kontrolnej (GK), w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) oraz w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) jako średnie i 0,95 przedział ufności. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „* ”.



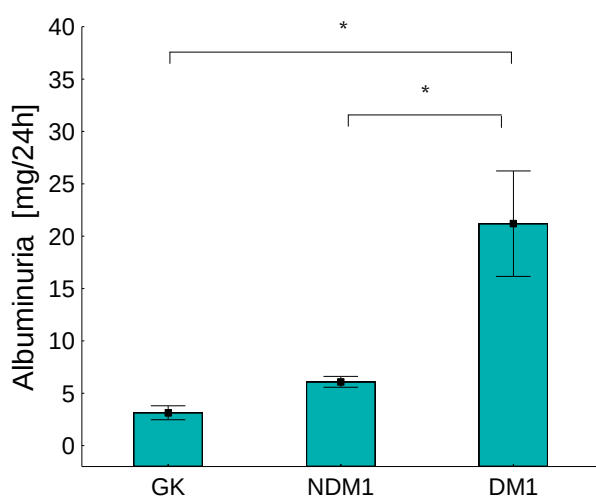
Ryc. IV.2. Poziom białka C-reaktywnego (CRP) w grupie kontrolnej (GK), w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) oraz w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) jako średnie i 0,95 przedział ufności. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „* ”.



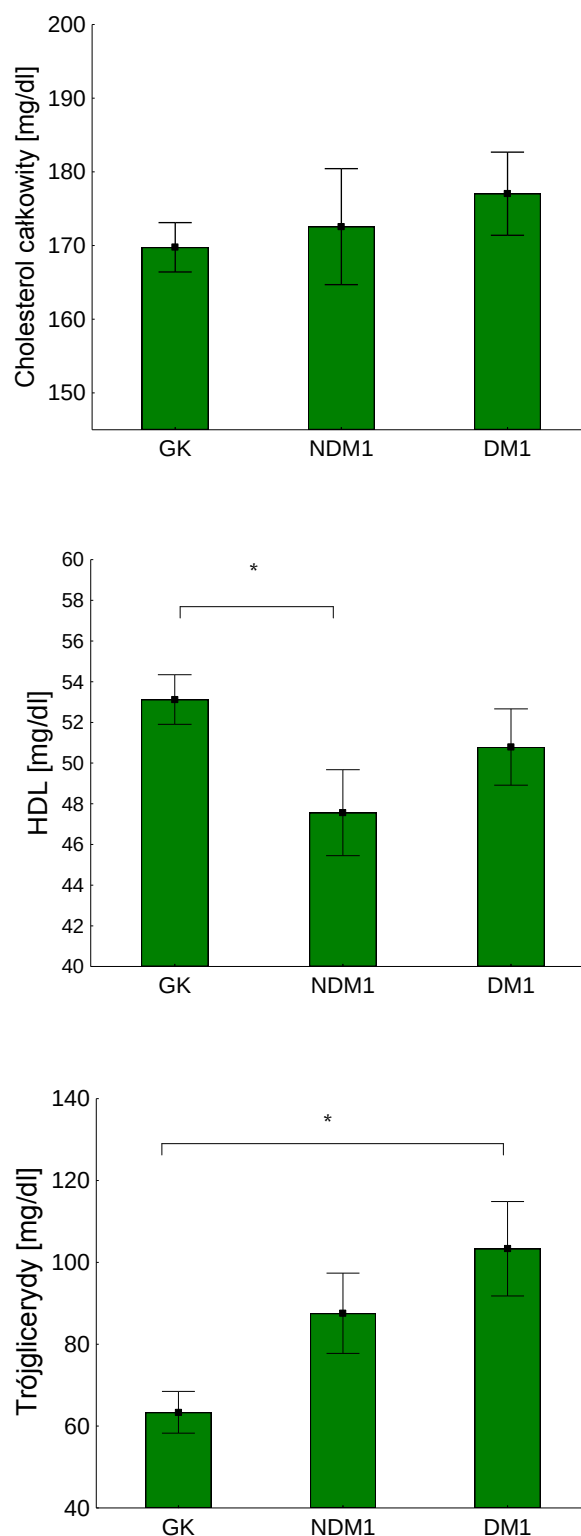
Ryc. IV.3. Poziom hemoglobiny glikowanej (HbA_{1c}) w grupie kontrolnej (GK), w grupie pacjentów z noworozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) oraz w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) jako średnie i 0,95 przedział ufności. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „* ”.



Ryc. IV.4. Poziom kreatyniny surowicy krwi w grupie kontrolnej (GK), w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) oraz w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) jako średnie i 0,95 przedział ufności. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „* ”.



Ryc. IV.5. Wydalanie albuminy w dobowej zbiorce moczu w grupie kontrolnej (GK), w grupie pacjentów ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) oraz w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) jako średnie i 0,95 przedział ufności. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „* ”.



Ryc. IV.6. Parametry gospodarki lipidowej (cholesterol całkowity, HDL-cholesterol, trójglicerydy) w grupie kontrolnej (GK), w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) oraz w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) jako średnie i 0,95 przedział ufności. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „* ”.

IV.1.2. Poziom leptyny i adiponektyny w grupie dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, z długotrwałą cukrzycą typu 1 oraz w grupie kontrolnej

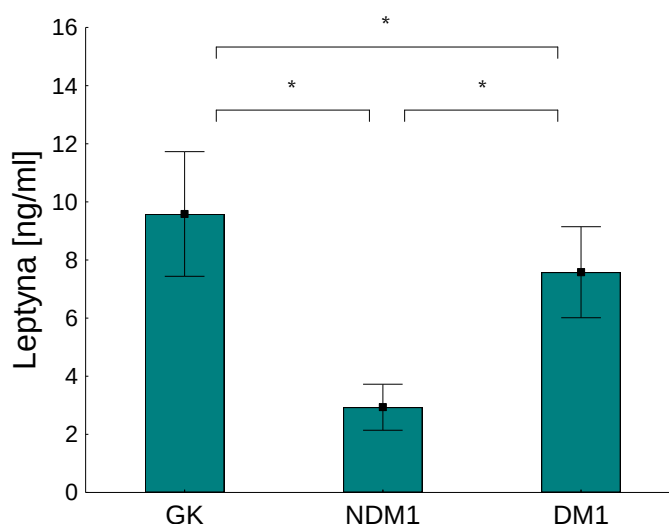
Stwierdzono istotne statystycznie różnice zarówno w poziomie leptyny, jak i adiponektyny pomiędzy pacjentami z nowo rozpoznaną i długotrwałą cukrzycą typu 1 oraz z grupą dzieci zdrowych.

Najwyższym poziomem leptyny charakteryzowała się grupa dzieci zdrowych, zaś najniższy poziom stwierdzono w grupie dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1.

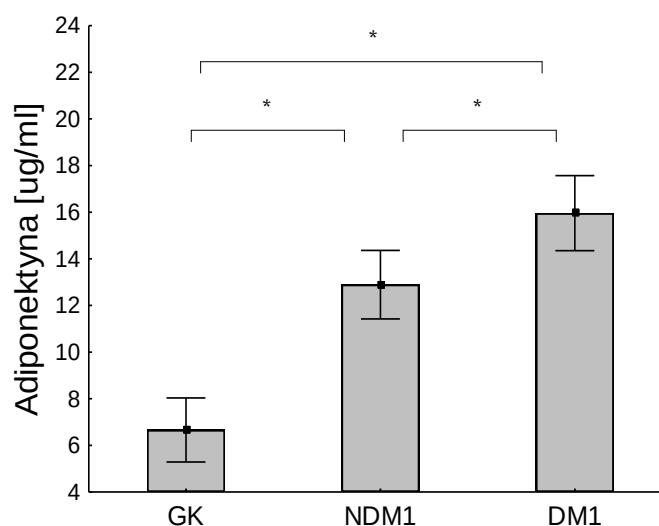
Natomiast najwyższy poziom adiponektyny wykazano w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 i był on statystycznie istotnie wyższy niż stwierdzony w grupie z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 i w grupie kontrolnej. Grupa pacjentów ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1 charakteryzowała się istotnie wyższym poziomem adiponektyny w porównaniu z grupą dzieci zdrowych (tab. IV.2; ryc. IV.7, 8).

Parametr	Pacjenci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1)	Pacjenci z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1)	Grupa kontrolna (GK)	P	p ₁ NDM1/GK	p ₂ DM1/GK	p ₃ NDM1/DM1
Leptyna [ng/ml]	2,93 ± 3,48	7,63 ± 8,41	9,58 ± 6,61	0,0001*	0,00001*	0,045*	0,00001*
Adiponektyna [µg/ml]	12,89 ± 6,55	15,95 ± 8,4	6,66±4,17	0,0001*	0,0001*	0,00001*	0,017*

Tab. IV.2. Stężenie leptyny i adiponektyny pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1), z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) oraz w grupie kontrolnej (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie ± SD. Różnice pomiędzy grupami obliczono przy użyciu testu ANOVA i ANOVA rang Kruskala-Wallisa. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „* ”.



Ryc. IV.7. Porównanie poziomów leptyny w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1), w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) oraz w grupie dzieci zdrowych (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie i 0,95 przedział ufności. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa. . Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „*”.



Ryc. IV.8. Porównanie poziomów adiponektyny w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1), w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) oraz w grupie dzieci zdrowych (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie i 0,95 przedział ufności. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu ANOVA. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „*”.

Stwierdzono istotnie statystycznie wyższy poziom leptyny u pacjentów z cukrzycą długotrwałą i w grupie kontrolnej u płci żeńskiej w porównaniu z płcią męską, natomiast nie wykazano istotnej różnicy w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 w zakresie stężenia leptyny w zależności od płci badanych osób (Załącznik, rysunek IX.3).

Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w zakresie poziomu leptyny w poszczególnych grupach uwzględniając stopień dojrzewania ocenianego według skali Tannera. Jedynie w stadium I dojrzewania w skali Tannera, tj. u dzieci przed okresem pokwitania we wszystkich badanych grupach stwierdzono niższy poziom leptyny w stosunku do dzieci po rozpoczęciu dojrzewania, ale wzrost jej poziomu w następnych stadiach dojrzewania płciowego nie różnił się istotnie w stosunku do poziomu leptyny u pacjentów przed okresem dojrzewania (Załącznik, rysunek IX.4).

Podobnie nie wykazano istotnych statystycznych różnic w poziomach adiponektyny w poszczególnych badanych grupach uwzględniając stopień dojrzewania w skali Tannera (Załącznik, rysunek IX.5). Jedynie w V stadium dojrzewania w skali Tannera w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 stwierdzono nieistotnie wyższy poziom adiponektyny niż w pozostałych badanych grupach.

PODSUMOWANIE ROZDZIAŁU IV.1.:

Pacjenci z długotrwałą cukrzycą typu 1 charakteryzowali się istotnie wyższym poziomem białka C-reaktywnego, kreatyniny, albuminurii oraz statystycznie znamienne wyższym skurczowym i rozkurczowym ciśnieniem tętniczym krwi.

Grupa pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 charakteryzowała się najniższym poziomem leptyny.

Najwyższy poziom adiponektyny stwierdzono w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1.

IV.2. CHARAKTERYSTYKA KLINICZNA I BIOCHEMICZNA PACJENTÓW Z NOWO ROZPOZNANĄ CUKRZYCĄ TYPU 1

W kolejnym etapie pracy dokonana została ocena stężeń leptyny oraz adiponektyny u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 uwzględniając stopień ciężkości zaburzeń w gospodarce kwasowo-zasadowej w momencie ujawnienia się choroby oraz została dokonana analiza zależności adipocytokin z parametrami klinicznymi i biochemicznymi w badanej grupie dzieci.

IV.2.1. Parametry kliniczne i biochemiczne u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 i w grupie kontrolnej

Pacjenci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 charakteryzowali się statystycznie znamienne wyższym poziomem przeciwciał przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego oraz istotnie niższym poziomem C-peptydu na czczo w porównaniu z grupą kontrolną.

W zakresie badanych adipocytokin stwierdzono u pacjenci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 statystycznie znamienne wyższy poziom adiponektyny oraz istotnie niższe stężenie leptyny w surowicy krwi w porównaniu z grupą dzieci zdrowych (tab. IV.3).

Parametr	Pacjenci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) (n= 75)	Grupa kontrolna (GK) (n= 40)	p
C-peptyd [ng/ml]	0,29 ± 0,16	1,17 ± 0,12	0,001*
GAD-Ab [IU/ml]	20,60 (1,4/980)	1,70 (0,3/3,0)	0,0002*
Leptyna [ng/ml]	2,93 ± 3,48	9,58 ± 6,61	0,00001*
Adiponektyna [µg/ml]	12,89 ± 6,55	6,66 ± 4,17	0,00018

Tab. IV.3. Parametry biochemiczne pacjentów z nowo rozpoznana cukrzycą typu 1 (NDM1) i grupy kontrolnej (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie ± SD lub jako mediany z 10/90 percentylem, w zależności od rozkładu zmiennej. GAD-Ab - przeciwciała przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego.

Różnice między grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „* ”

IV.2.2. Parametry kliniczne i biochemiczne u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 w zależności od stopnia zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej w momencie rozpoznania choroby

Grupa pacjentów z objawami ciężkiej kwasicy ketonowej ($\text{pH} < 7,0$) była istotnie młodsza wiekiem, charakteryzowała się istotnie statystycznie wyższym poziomem HbA_{1c}, cholesterolu całkowitego, jego frakcji LDL oraz trójglicerydów w porównaniu do grupy pacjentów, u których w momencie rozpoznania choroby nie stwierdzono zaburzeń w gospodarce kwasowo-zasadowej ($\text{pH} > 7,3$) (tab. IV.4). Stwierdzono również istotne statystycznie różnice w zakresie parametrów gospodarki lipidowej pomiędzy grupą pacjentów z kwasicą stopnia lekkiego i średniego a grupą pacjentów z kwasicą stopnia ciężkiego w momencie ujawnienia się cukrzycy i grupą chorych z ciężką kwasicą charakteryzowała się wyższym poziomem tych parametrów (tab. IV.4.).

Natomiast, uwzględniając stopień zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej przy rozpoznaniu cukrzycy typu 1, nie wykazano istotnych różnic w zakresie poziomu C-peptydu, przeciwciał przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego, białka C-reaktywnego, dobowego wydalania albuminy w moczu, frakcji HDL-cholesterolu oraz dobowego zapotrzebowania na insulinę. Stwierdzono jednak, iż pacjenci z objawami ciężkiej kwasicy metabolicznej charakteryzowali się najniższym poziomem HDL-cholesterolu oraz C-peptydu, natomiast najwyższym poziomem HbA_{1c} oraz dobowym zapotrzebowaniem na insulinę. Natomiast pacjenci bez objawów kwasicy metabolicznej wykazywali najwyższy poziom C-peptydu i HDL-cholesterolu oraz najniższy poziom HbA_{1c} i najniższe dobowe zapotrzebowanie na insulinę.

Nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie poziomu leptyny i adiponektyny pomiędzy poszczególnymi grupami, uwzględniając stopień zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej przy ujawnieniu się cukrzycy typu 1 (tab. IV.4). Jednak grupa pacjentów z ciężką kwasicą charakteryzowała się najwyższym stężeniem leptyny i najniższym poziomem adiponektyny. Natomiast grupa pacjentów bez objawów kwasicy metabolicznej charakteryzowała się najwyższym poziomem adiponektyny.

Parametr	1) Pacjenci bez kwasicy (pH > 7,3)	2) Pacjenci z kwasicą lekkiego i średniego stopnia (pH 7,3 - 7,0)	3) Pacjenci z kwasicą ciężkiego stopnia (pH < 7,0)	p ₁ (1/2)	p ₂ (2/3)	p ₃ (1/3)
N	41	21	13			
Wiek [lata]	10 ± 4,2	9,18 ± 4,06	6,75 ± 3,7	0,79	0,31	0,04
BMI [kg/m ²]	16,26 ± 2,95	15,62 ± 2,21	15,44 ± 3,18	0,71	0,88	0,66
HbA1c [%]	11,38 ± 2,94*	11,82 ± 2,08*	12,91 ± 1,93	0,97	0,15	0,04
C-peptyd [ng/ml]	0,31 ± 0,18	0,27 ± 0,13	0,26 ± 0,07	0,35	0,91	0,31
Albuminuria [mg/24h]	6,27 ± 2,01	5,30 ± 1,58	6,17 ± 2,17	0,58	0,50	0,90
Cholesterol [mg/ml]	159 ± 22	170 ± 34	198 ± 49	0,49	0,01	0,005
LDL-cholesterol [mg/ml]	94 ± 19	109 ± 30	127 ± 35	0,15	0,009	0,15
HDL-cholesterol [mg/ml]	50 ± 8	47 ± 7	44 ± 16	0,47	0,65	0,24
Trójglicerydy [mg/ml]	77 ± 26	83 ± 34	123 ± 75	0,97	0,04	0,008
CRP [mg/l]	0,56 ± 0,58	0,42 ± 0,33	0,34 ± 0,31	0,59	0,91	0,39
Zapotrzebowanie na insulinę [j/kg/d]	0,57 ± 0,22	0,63 ± 0,24	0,68 ± 0,19	0,69	0,89	0,52
GAD-Ab [IU/ml]	44 (0,4 - 940)	19,7 (4,96 - 2000)	5,4 (1,4 - 75,2)	0,69	0,86	0,52
Leptyna [ng/ml]	3,12 ± 3,93	2,17 ± 2,46	3,44 ± 2,09	0,45	0,19	0,87
Adiponektyna [µg/ml]	13,61 ± 6,86	11,88 ± 5,66	10,43 ± 6,76	0,62	0,87	0,45

Tab. IV.4. Parametry kliniczne i biochemiczne u dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 i z podziałem na grupy w zależności od poziomu pH przy przyjęciu na Oddział Diabetologii Dziecięcej. Wyniki przedstawiono jako średnie ± SD. n - liczba przypadków, BMI - indeks masy ciała, HbA1c - hemoglobina glikowana, CRP - białko C-reaktywne, GAD-Ab - przeciwciała przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego. Różnice między grupami istotne statystycznie (p<0,05) oznaczono symbolem „* ”.

PODSUMOWANIE ROZDZIAŁU IV.2:

Grupa dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 charakteryzowała się statystycznie znamionym wyższym poziomem przeciwciał przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego, znamionnie niższym stężeniem leptyny i istotnie wyższym stężeniem adiponektyny w porównaniu z grupą kontrolną.

Grupa dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 i z towarzyszącą kwasicą metaboliczną przy rozpoznaniu choroby charakteryzowała się statystycznie znamionym wyższym poziomem HbA_{1c}, cholesterolu całkowitego oraz trójglicerydów, natomiast nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie poziomu badanych adipocytokin uwzględniając stopień zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej.

IV.3. KORELACJE POMIĘDZY LEPTYNĄ I ADIPONEKTYNĄ A PARAMETRAMI KLINICZNYMI I BIOCHEMICZNYMI

W kolejnym etapie pracy dokonana została ocena zależności pomiędzy badanymi adipocytokinami i wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną i długotrwałą cukrzycą typu 1 w odniesieniu do grupy kontrolnej.

IV.3.1. Analiza korelacji leptyny z parametrami klinicznymi i biochemicznymi u dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, z długotrwałą cukrzycą typu 1 oraz w grupie kontrolnej

Analiza statystyczna nie wykazała zależności pomiędzy stężeniem leptyny a wiekiem zachorowania na cukrzycę typu 1 w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną jak i długotrwałą cukrzycą typu 1.

W grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 stwierdzono ujemną istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem leptyny a poziomem przeciwciał przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego. Nie wykazano natomiast istotnej korelacji między stężeniem leptyny a poziomem C-peptydu, HbA_{1c}, cholesterolu całkowitego, jego frakcji HDL i LDL, trójglicerydów, białka C-reaktywnego, kreatyniny, albuminurii oraz wartością ciśnienia skurczowego i rozkurczowego krwi w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1.

We wszystkich badanych grupach wykazano istotną statystycznie dodatnią korelację między wskaźnikiem masy ciała (BMI) a poziomem leptyny.

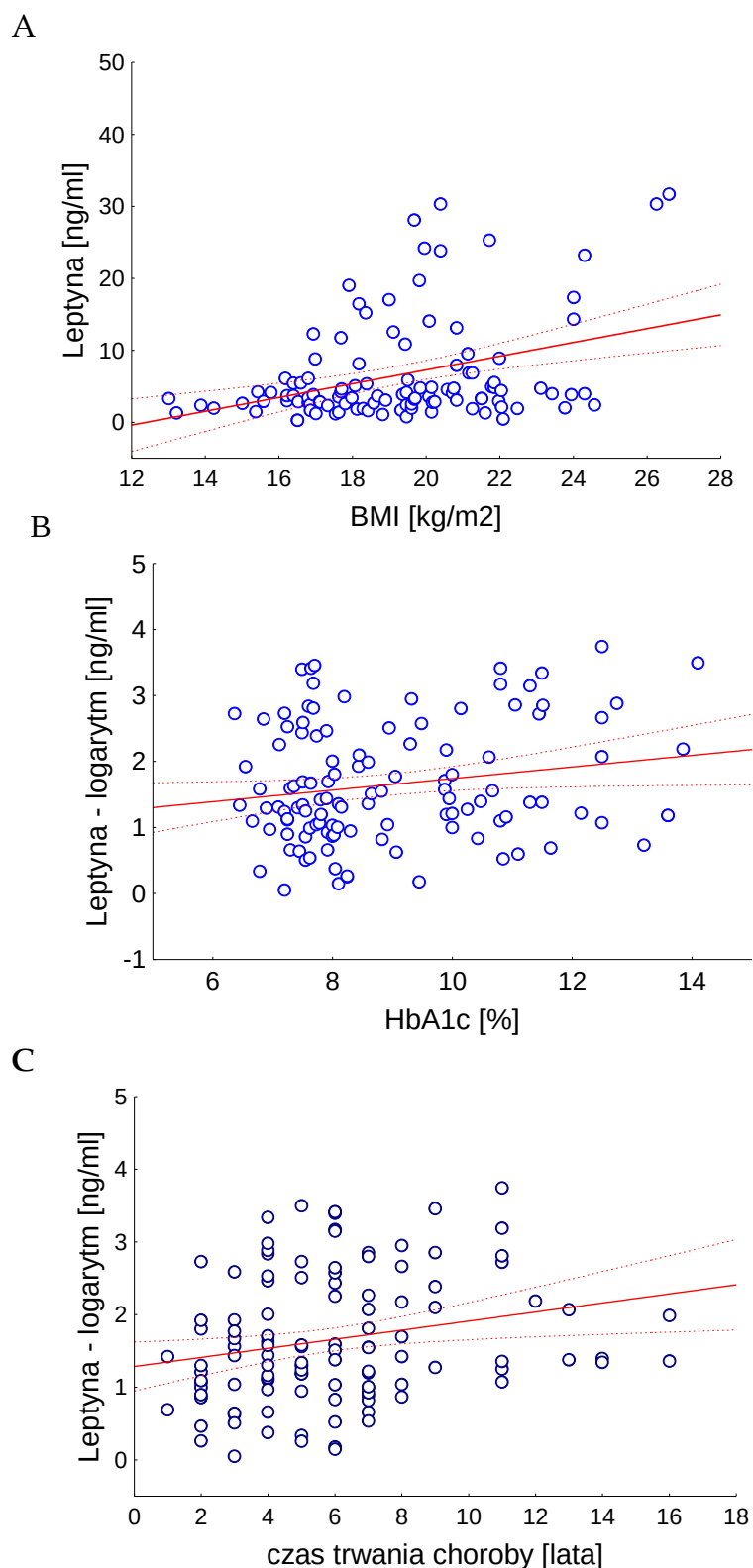
U pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 stwierdzono istotne dodatnie korelacje pomiędzy poziomem leptyny a czasem trwania choroby, poziomem HbA_{1c} oraz poziomem białka C-reaktywnego. W grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 nie stwierdzono natomiast istotnych korelacji pomiędzy poziomem leptyny a poziomem cholesterolu całkowitego, jego frakcji LDL i HDL oraz poziomem kreatyniny i dobowym wydalaniem albumin w moczu. (tab. IV.5.).

	Leptyna		
Parametr / Grupa badana	Pacjenci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) (n= 75)	Pacjenci z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DDM1) (n= 115)	Grupa kontrolna (GK) (n= 40)
Wiek [lata]	R ₁ = 0,11; p= 0,6	R ₂ = 0,19; p ₂ = 0,04*	R ₃ = 0,25; p ₃ = 0,13
Wiek zachorowania na cukrzycę [lata]	R ₁ = 0,11; p ₁ = 0,6	R ₂ = 0,06; p ₂ = 0,57	-----
Czas trwania choroby [lata]	-----	R ₂ = 0,21; p ₂ = 0,04*	-----
BMI [kg/m ²]	R ₁ = 0,42; p ₁ = 0,001*	R ₂ = 0,36; p ₂ = 0,0001*	R ₃ = 0,43; p ₃ = 0,049*
HbA _{1c} [%]	R ₁ = 0,0042; p ₁ = 0,9	R ₂ = 0,19; p ₂ = 0,04*	R ₃ = 0,06; p ₃ = 0,7
Cholesterol całkowity [mg/dl]	R ₁ = 0,12; p ₁ = 0,37	R ₂ = 0,02; p ₂ = 0,86	R ₃ = 0,08; p ₃ = 0,6
LDL-cholesterol [mg/dl]	R ₁ = 0,14; p ₁ = 0,39	R ₂ = -0,03; p ₂ = 0,79	R ₃ = 0,21; p ₃ = 0,18
HDL-cholesterol [mg/dl]	R ₁ = -0,16; p ₁ = 0,2	R ₂ = 0,13; p ₂ = 0,18	R ₃ = 0,23; p ₃ = 0,13
Trójglicerydy [mg/dl]	R ₁ = 0,2; p ₁ = 0,13	R ₂ = 0,04; p ₂ = 0,68	R ₃ = 0,49; p ₃ = 0,047*
CRP [mg/l]	R ₁ = 0,15; p ₁ = 0,4	R ₂ = 0,21; p ₂ = 0,02*	R ₃ = -0,44; p ₃ = 0,004*
Albuminuria [mg/24h]	R ₁ = -0,02; p ₁ = 0,85	R ₂ = -0,09; p ₂ = 0,32	R ₃ = 0,12; p ₃ = 0,47
Kreatynina [mg/dl]	R ₁ = -0,05; p ₁ = 0,68	R ₂ = -0,13; p ₂ = 0,15	R ₃ = 0,12; p ₃ = 0,48
Skurczowe ciśnienie tętnicze (SBP) [mmHg]	R ₁ = -0,02; p ₁ = 0,9	R ₂ = 0,09; p ₂ = 0,34	R ₃ = 0,004; p ₃ = 0,9
Rozkurczowe ciśnienie tętnicze (DBP) [mmHg]	R ₁ = 0,11; p ₁ = 0,37	R ₂ = 0,11; p ₂ = 0,27	R ₃ = 0,004; p ₃ = 0,9
Zapotrzebowanie na insulinę [j/kg/24h]	R ₁ = 0,09; p ₁ = 0,4	R ₂ = -0,05; p ₂ = 0,58	-----
C-peptyd na czczo [ng/ml]	R ₁ = 0,016; p ₁ = 0,9	-----	R ₃ = 0,13; p ₃ = 0,4
GAD-Ab [IU/ml]	R ₁ = -0,24; p ₁ = 0,04*	-----	-----

Tab. IV.5. Związek pomiędzy poziomem leptyny a wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1), w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) i w grupie kontrolnej (GK) BMI - indeks masy ciała, HbA_{1c} - hemoglobina glikowana, CRP - białko C reaktywne, GAD-Ab - przeciwciała przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego.

R - współczynnik korelacji rang Spearmana.

Korelacje istotne statystycznie (p<0,05) oznaczono symbolem „ * ”.

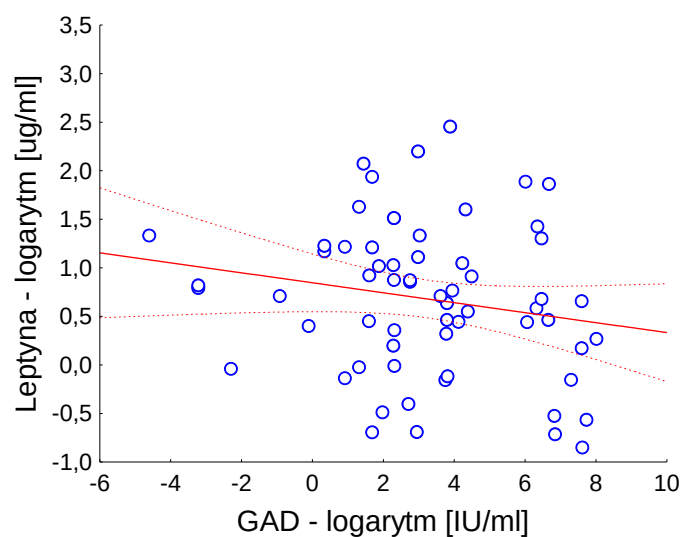


Ryc. IV.9. Związek pomiędzy poziomem leptyny a wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1). R= współczynnik korelacji rang Spearmana. Punkty na wykresach odpowiadają poszczególnym przypadkom.

(A) Korelacja pomiędzy poziomem leptyny a wskaźnikiem BMI ($R=0,36$; $p=0,0001$).

(B) Korelacja pomiędzy poziomem leptyny a poziomem HbA_{1c} ($R=0,19$; $p=0,04$).

(C) Korelacja pomiędzy poziomem leptyny a czasem trwania choroby ($R=0,21$; $p=0,04$).



Ryc. IV.10. Korelacja pomiędzy poziomem leptyny a poziomem przeciwciał przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego (GAD-Ab) w grupie pacjentów z nowo rozpoznana cukrzycą typu 1 (NDM1) ($R=-0,29$; $p<0,05$). Korelację przedstawiono za pomocą logarytmu ze zmiennych. R - współczynnik korelacji rang Spearmana.

Punkty na wykresach odpowiadają poszczególnym przypadkom.

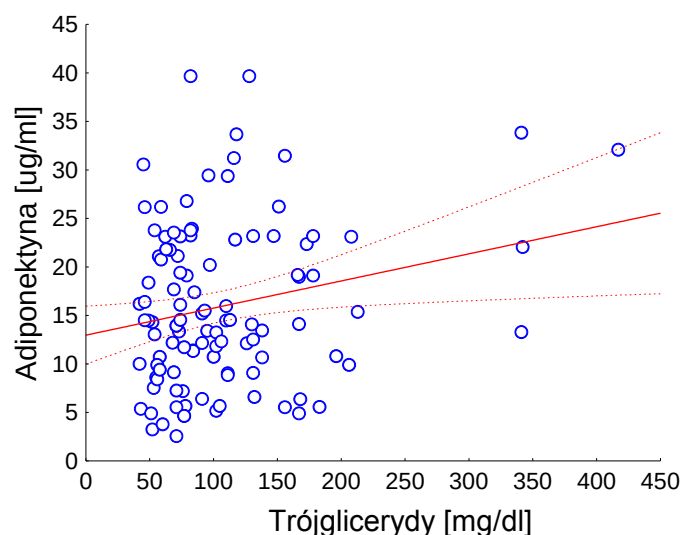
IV.3.2. Analiza korelacji adiponektyny z parametrami klinicznym i biochemicznymi u dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, z długotrwałą cukrzycą typu 1 oraz w grupie kontrolnej

W grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 stwierdzono ujemną istotną korelację pomiędzy poziomem adiponektyny a wiekiem pacjenta oraz wielkością rozkurczowego ciśnienia tętniczego krwi. W tej grupie pacjentów nie stwierdzono natomiast istotnych korelacji pomiędzy poziomem adiponektyny a BMI, poziomem C-peptydu, HbA_{1c}, białka C-reaktywnego, kreatyniny w surowicy, albuminurii oraz parametrami gospodarki lipidowej (tab. IV.6.).

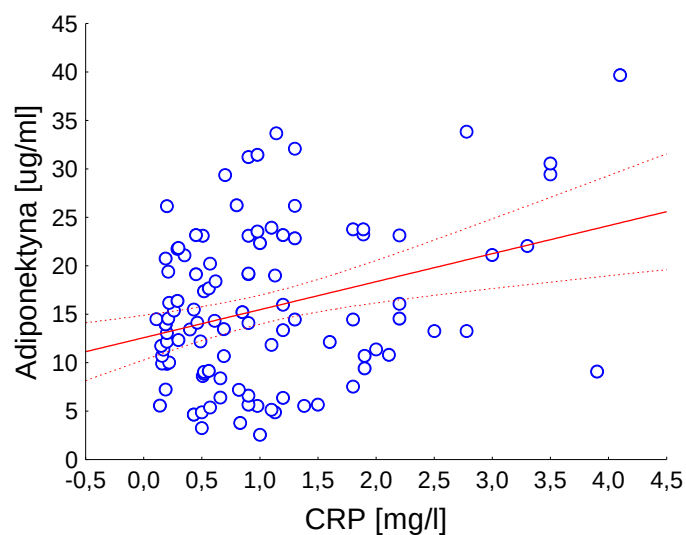
W grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 stwierdzono istotne statystycznie dodatnie korelacje pomiędzy poziomem adiponektyny a stężeniem trójglicerydów, poziomem HbA_{1c}, białka C-reaktywnego, albuminurii oraz dobowym zapotrzebowaniem na insulinę. Nie stwierdzono natomiast w tej grupie chorych istotnych zależności pomiędzy poziomem adiponektyny a wiekiem pacjenta, wiekiem jego zachorowania na cukrzycę typu 1, czasem trwania choroby, BMI, poziomem cholesterolu całkowitego i jego frakcją HDL i LDL, kreatyniną oraz wielkością ciśnienia tetniczego krwi (tab. IV.6.).

	Adiponektyna		
Parametr / Grupa badana	Pacjenci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) (n= 75)	Pacjenci z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) (n= 115)	Grupa kontrolna (GK) (n= 40)
Wiek [lata]	$R_1 = -0,33; p_1 = 0,008^*$	$R_2 = 0,12; p_2 = 0,218$	$R_3 = -0,06; p_3 = 0,7$
Wiek zachorowania na cukrzycę [lata]	$R_1 = -0,33; p_1 = 0,008^*$	$R_2 = 0,09; p_2 = 0,35$	-----
Czas trwania choroby [lata]	-----	$R_2 = 0,006; p_2 = 0,95$	-----
BMI [kg/m ²]	$R_1 = -0,21; p_1 = 0,09$	$R_2 = 0,025; p_2 = 0,79$	$R_3 = 0,25; p_3 = 0,11$
HbA _{1c} [%]	$R_1 = -0,09; p_1 = 0,46$	$R_2 = 0,31; p_2 = 0,002^*$	$R_3 = 0,07; p_3 = 0,68$
Cholesterol całkowity [mg/dl]	$R_1 = -0,02; p_1 = 0,86$	$R_2 = 0,1; p_2 = 0,3$	$R_3 = 0,074; p_3 = 0,65$
LDL-cholesterol [mg/dl]	$R_1 = -0,07; p_1 = 0,56$	$R_2 = 0,09; p_2 = 0,35$	$R_3 = 0,07; p_3 = 0,68$
HDL-cholesterol [mg/dl]	$R_1 = 0,19; p_1 = 0,2$	$R_2 = -0,08; p_2 = 0,44$	$R_3 = -0,1; p_3 = 0,53$
Trójglicerydy [mg/dl]	$R_1 = -0,07; p_1 = 0,62$	$R_2 = 0,22; p_2 = 0,02^*$	$R_3 = 0,19; p_3 = 0,24$
CRP [mg/l]	$R_1 = 0,017; p_1 = 0,89$	$R_2 = 0,32; p_2 = 0,001^*$	$R_3 = -0,17; p_3 = 0,29$
Albuminuria [mg/24h]	$R_1 = -0,085; p_1 = 0,5$	$R_2 = 0,34; p_2 = 0,001^*$	$R_3 = 0,36; p_3 = 0,02^*$
Kreatynina [mg/dl]	$R_1 = -0,26; p_1 = 0,05$	$R_2 = -0,02; p_2 = 0,851$	$R_3 = 0,17; p_3 = 0,28$
Skurczowe ciśnienie krwi [mmHg]	$R_1 = -0,2; p_1 = 0,1$	$R_2 = -0,11; p_2 = 0,27$	$R_3 = 0,29; p_3 = 0,07$
Rozkurczowe ciśnienie krwi [mmHg]	$R = -0,34; p = 0,008^*$	$R_2 = -0,11; p_2 = 0,25$	$R_3 = 0,29; p_3 = 0,18$
Zapotrzebowanie na insulinę [j/kg/24h]	$R_1 = 0,21; p_1 = 0,15$	$R_2 = 0,27; p_2 = 0,02^*$	-----
C-peptyd na czczo [ng/ml]	$R_1 = -0,0013; p_1 = 0,99$	-----	$R_3 = 0,04; p_3 = 0,78$

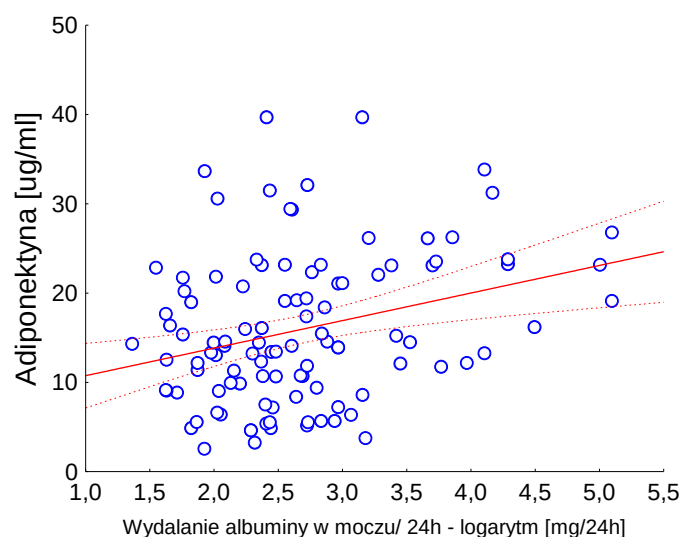
Tab. IV.6. Związek pomiędzy poziomem adiponektyny a wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1), w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) oraz w grupie kontrolnej (GK). BMI - indeks masy ciała, HbA_{1c} - hemoglobina glikowana, CRP - białko C reaktywne. R - współczynnik korelacji rang Spearmana. Korelacje istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „* ”.



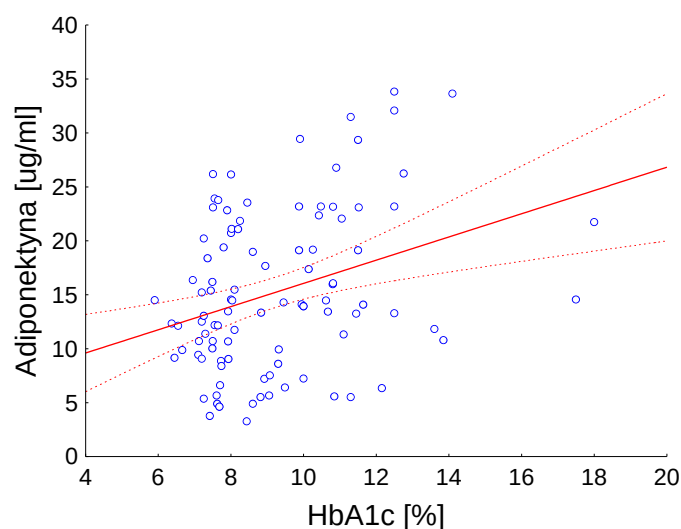
Ryc. IV.11. Związek pomiędzy poziomem adiponektyny a poziomem trójglicerydów w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 ($R=0,22$, $p=0,02$). R - współczynnik korelacji rang Spearmana. Punkty na wykresach odpowiadają poszczególnym przypadkom.



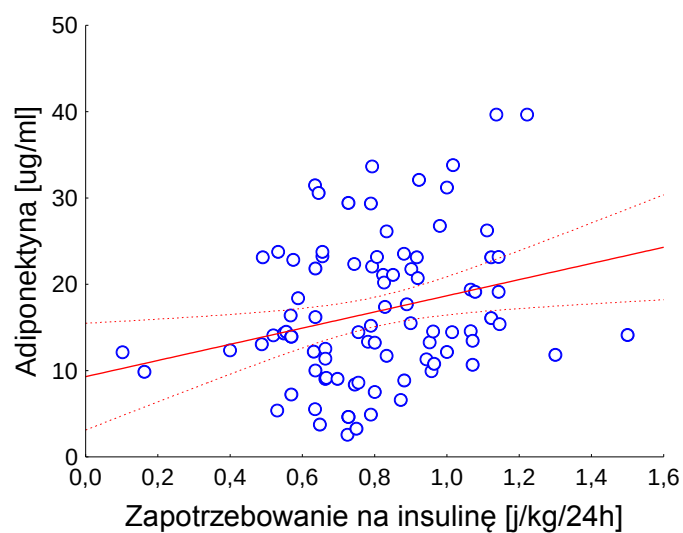
Ryc. IV.12. Związek pomiędzy poziomem adiponektyny a poziomem białka C-reaktywnego (CRP) w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 ($R=0,32$, $p=0,001$). R - współczynnik korelacji rang Spearmana. Punkty na wykresach odpowiadają poszczególnym przypadkom.



Ryc. IV.13. Związek pomiędzy poziomem adiponektyny a wydalaniem albuminy w dobowej zbiórce moczu w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 ($R=0,34$, $p=0,001$). R - współczynnik korelacji rang Spearmana. Punkty na wykresach odpowiadają poszczególnym przypadkom.



Ryc. IV.14. Związek pomiędzy poziomem adiponektyny a poziomem hemoglobiny glikowanej (HbA_{1c}) w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 ($R=0,31$, $p=0,002$). R - współczynnik korelacji rang Spearmana. Punkty na wykresach odpowiadają poszczególnym przypadkom.



Ryc. IV.15. Związek pomiędzy poziomem adiponektyny a zapotrzebowaniem na insulinę w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 ($R=0,27$, $p=0,02$). R - współczynnik korelacji rang Spearmana. Punkty na wykresach odpowiadają poszczególnym przypadkom.

PODSUMOWANIE ROZDZIAŁU IV.3.:

Wykazano istotną dodatnią korelację między poziomem leptyny a BMI we wszystkich badanych grupach, natomiast w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 dodatkowo stwierdzono istotną dodatnią zależność z poziomem HbA_{1c}, CRP oraz czasem trwania choroby.

Nie stwierdzono natomiast istotnych zależności pomiędzy poziomem leptyny a parametrami gospodarki lipidowej i albuminurią.

Ponadto u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 stwierdzono istotne dodatnie korelacje pomiędzy poziomem adiponektyny a stężeniem trójglicerydów, poziomem HbA_{1c}, CRP, albuminurii i dobowym zapotrzebowaniem na insulinę.

IV.4. PORÓWNANIE GRUPY PACJENTÓW Z DŁUGOTRWAŁĄ CUKRZYCĄ TYPU 1 BEZ UDOKUMENTOWANYCH POWIKŁAŃ I Z POWIKŁANIAMI NACZYNIOWYMI

W następnym etapie badań dokonane zostało porównanie stężeń adipocytokin u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 w zależności od obecności późnych powikłań naczyniowych oraz odniesienie ich do parametrów klinicznych i biochemicznych badanych grup pacjentów. U pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 podjęto także próbę analizy parametrów klinicznych i biochemicznych oraz stężeń badanych adipocytokin w zależności od stopnia wyrównania metabolicznego choroby.

IV.4.1. Parametry kliniczne w grupie pacjentów z cukrzycą typu 1 bez obecności powikłań oraz w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 z powikłaniami naczyniowymi

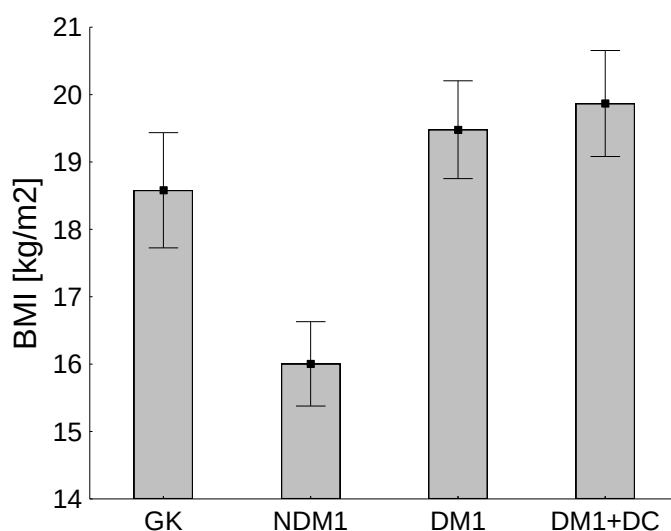
Pacjenci z długotrwałą cukrzycą typu 1 i stwierdzonym jednym lub dwoma późnymi powikłaniami cukrzycowymi (nefropatią i/lub retinopatią cukrzycową) charakteryzowali się istotnie dłuższym czasem trwania choroby oraz statystycznie istotnie wyższym poziomem wydalania albuminy w moczu w porównaniu do grupy pacjentów bez udokumentowanych objawów nefropatii i retinopatii cukrzycowej.

Ponadto pacjenci z obecnością późnych powikłań naczyniowych charakteryzowali się wyższym poziomem HbA_{1c}, białka C-reaktywnego, trójglicerydów, cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, kreatyniny, ciśnienia skurczowego krwi, dobowego zapotrzebowania na insulinę oraz wskaźnikiem BMI niż pacjenci bez powikłań naczyniowych, ale różnice te nie były istotne statystycznie.

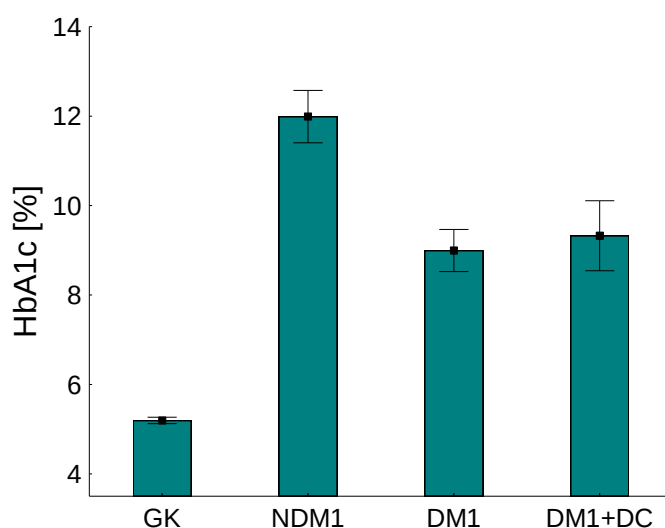
Grupa pacjentów z udokumentowanymi późnymi powikłaniami naczyniowymi charakteryzowała się nieistotnie niższym poziomem HDL-cholesterolu w porównaniu z grupą pacjentów bez powikłań naczyniowych.

Parametr / Grupa badana	Pacjenci bez powikłań naczyniowych (DM1) (n=85)	Pacjenci z powikłaniami naczyniowymi (DM1+DC) (n=30)	p
Wiek [lata]	14,05 ± 3,31	15,36 ± 2,25	0,40
Wiek zachorowania [lata]	8,41 ± 3,75	8,13 ± 4,09	0,94
Czas trwania choroby [lata]	5,63 ± 2,78	7,23 ± 4,19	0,04*
BMI [kg/m ²]	19,48 ± 3,48	19,86 ± 2,11	0,94
HbA _{1c} [%]	8,99 ± 2,26	9,32 ± 2,09	0,32
Cholesterol całkowity [mg/dl]	176 ± 31,23	177,7 ± 31,26	0,89
LDL-cholesterol [mg/dl]	102 ± 24,99	104 ± 31,97	0,75
HDL-cholesterol [mg/dl]	51,38 ± 10,77	48,86 ± 8,87	0,24
Trójglicerydy [mg/dl]	97,48 ± 53,60	121,43 ± 85,73	0,19
CRP [mg/l]	0,98 ± 0,88	1,06 ± 0,90	0,87
Albuminuria [mg/24h]	11,47 ± 5,10	50,31 ± 43,91	0,003*
Kreatynina [mg/ml]	0,73 ± 0,1	0,77 ± 0,19	0,65
Skurczowe ciśnienie krwi [mmHg]	112 ± 12	116 ± 9	0,48
Rozkurczowe ciśnienie krwi [mmHg]	71 ± 8	72 ± 6	0,69
Dobowe zapotrzebowanie na insulinę [j/kg/24h]	0,79 ± 0,23	0,81 ± 0,23	0,71

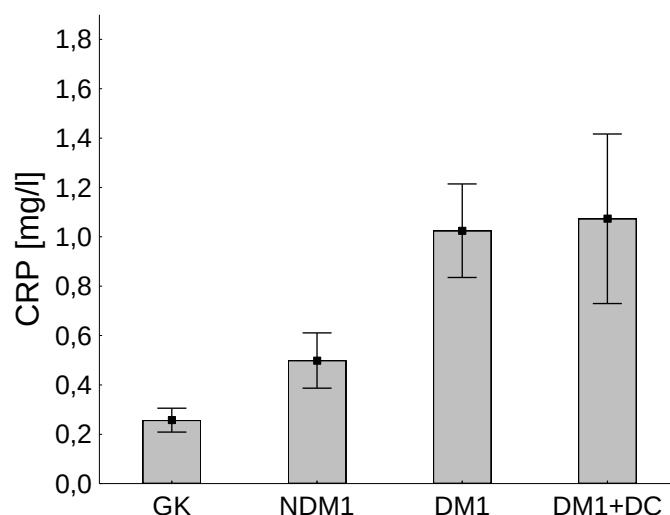
Tab. IV.7. Parametry kliniczne i biochemiczne dzieci z cukrzycą typu 1 długotrwałą bez powikłań cukrzycowych (DM1) oraz z powikłaniami (DM1+DC). Wyniki przedstawiono jako średnie ± SD. n - liczba przypadków, BMI - indeks masy ciała, HbA_{1c} - hemoglobina glikowana, CRP - białko C reaktywne. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie (p<0,05) oznaczono symbolem „* ”.



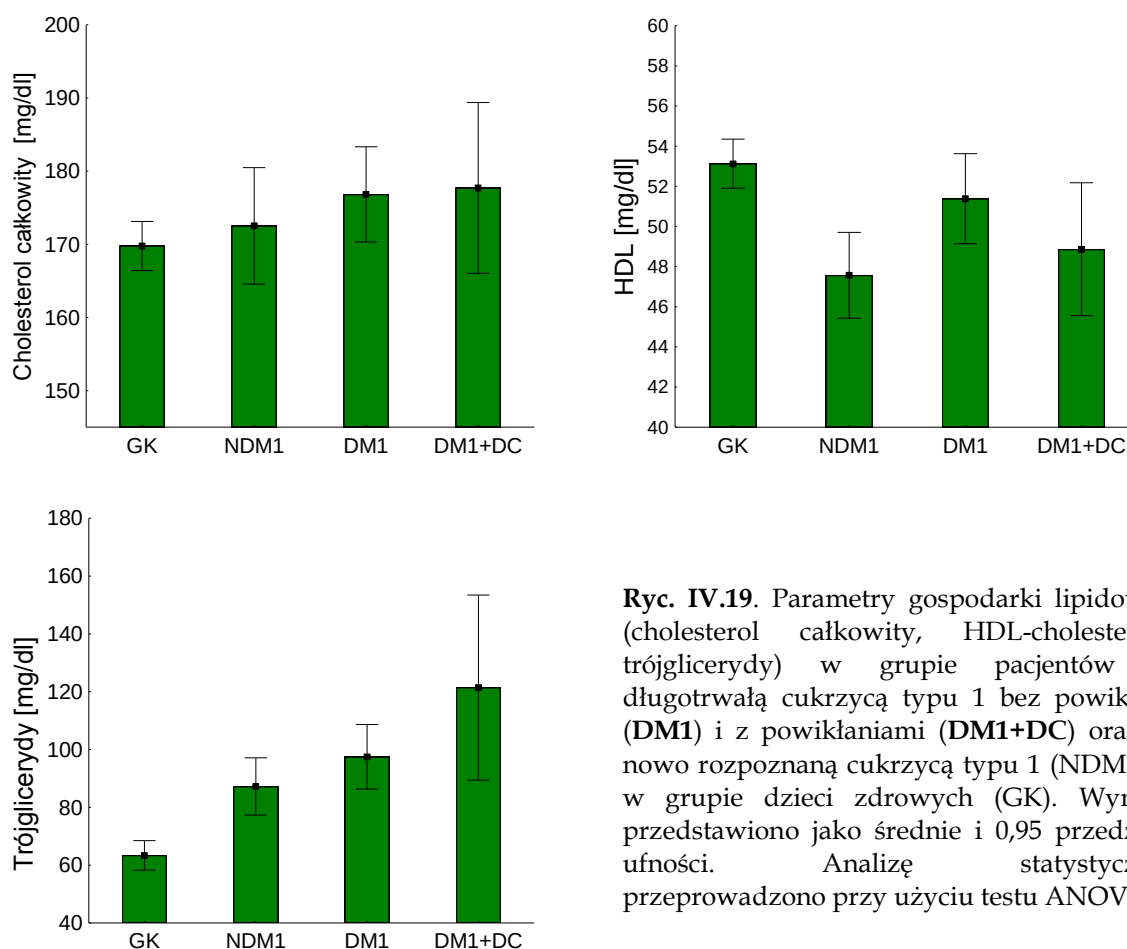
Ryc. IV.16. Porównanie indeksu masy ciała (BMI) w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 bez powikłań (DM1) i z powikłaniami (DM1+DC) oraz z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) i w grupie dzieci zdrowych (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie i 0,95 przedział ufności. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu ANOVA .



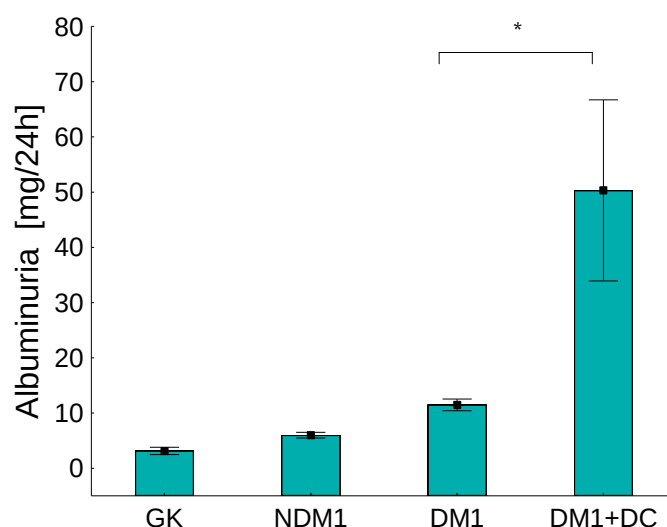
Ryc. IV.17. Poziom hemoglobiny glikowanej (HbA_{1c}) w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 bez powikłań (DM1) i z powikłaniami (DM1+DC) oraz z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) i w grupie dzieci zdrowych (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie i 0,95 przedział ufności. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu ANOVA .



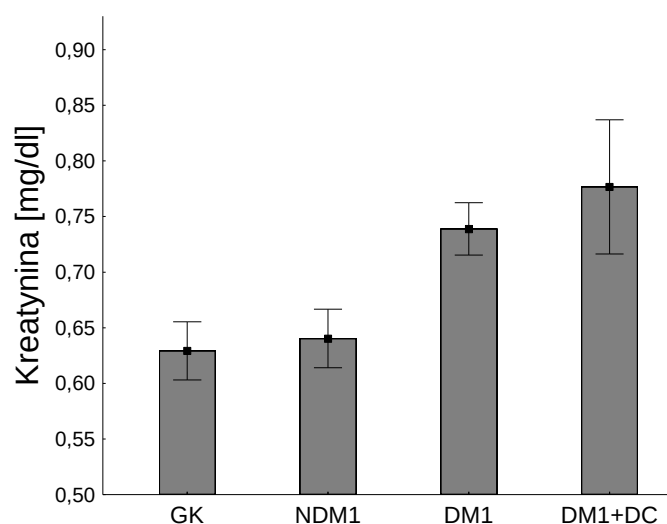
Ryc. IV.18. Poziom białka C-reaktywnego (CRP) w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 bez powikłań (**DM1**) i z powikłaniami (**DM1+DC**) oraz z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) i w grupie dzieci zdrowych (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie i 0,95 przedział ufności. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu ANOVA.



Ryc. IV.19. Parametry gospodarki lipidowej (cholesterol całkowity, HDL-cholesterol, trójglicerydy) w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 bez powikłań (**DM1**) i z powikłaniami (**DM1+DC**) oraz z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) i w grupie dzieci zdrowych (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie i 0,95 przedział ufności. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu ANOVA.



Ryc. IV.20. Poziom albuminurii w dobowej zbiórce moczu w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 bez powikłań (**DM1**) i z powikłaniami (**DM1+DC**) oraz z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) i w grupie dzieci zdrowych (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie i 0,95 przedziały ufności. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu ANOVA. Różnice pomiędzy grupami DM1 i DM1+DC istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „*”.



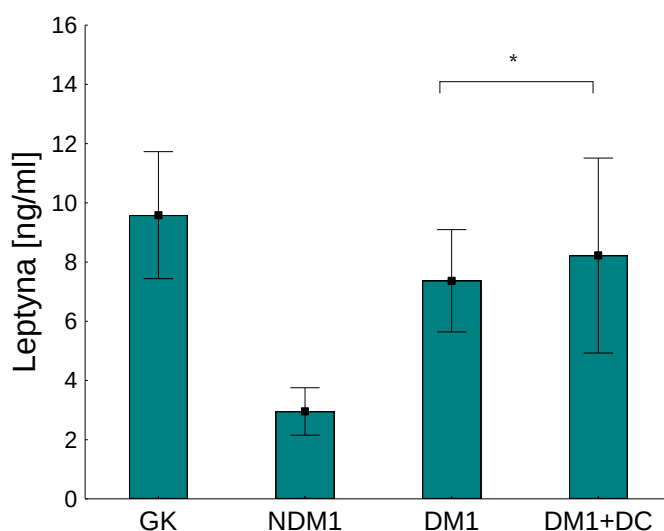
Ryc. IV.21. Poziom kreatyniny w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 bez powikłań (**DM1**) i z powikłaniami (**DM1+DC**) oraz z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) i w grupie dzieci zdrowych (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie i 0,95 przedziały ufności. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu ANOVA.

IV.4.2. Poziom leptyny i adiponektyny w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 bez udokumentowanych powikłań oraz w grupie pacjentów z cukrzycą typu 1 z powikłaniami naczyniowymi

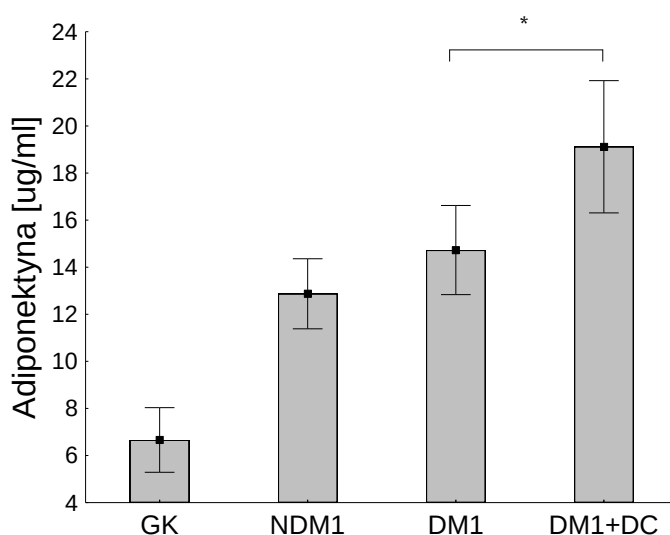
W grupie pacjentów z objawami późnych powikłań naczyniowych o charakterze mikroangiopatii cukrzycowej stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenie leptyny oraz istotnie wyższy poziom adiponektyny w porównaniu z grupą pacjentów chorych na cukrzycę typu 1, u których nie stwierdzono objawów nefropatii i retinopatii cukrzycowej (tab. IV.8).

Parametr	Pacjenci z powikłaniami (DM1+DC) (n = 30)	Pacjenci bez powikłań (DM1) (n = 85)	p
Leptyna [ng/ml]	9,88 ± 8,74	7,15 ± 7,91	0,03*
Adiponektyna [ug/ml]	19,11 ± 7,52	14,72 ± 8,39	0,04*

Tab. IV.8. Poziom leptyny i adiponektyny u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 i z powikłań naczyniowych (DM1+DC) oraz w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 bez powikłań (DM1). Wyniki przedstawiono jako średnie ± SD. Różnice pomiędzy grupami obliczono przy użyciu testu ANOVA i ANOVA rang Kruskala-Wallisa. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „* ”.



Ryc. IV.22. Porównanie poziomu leptyny w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 bez powikłań naczyniowych (**DM1**) i z powikłaniami naczyniowymi (**DM1+DC**) oraz z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1), a także w grupie dzieci zdrowych (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie i 0,95 przedziały ufności. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu ANOVA. Różnice pomiędzy grupami DM1 i DM1+DC istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „*”.



Ryc. IV. 23. Porównanie poziomu adiponektyny w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 bez powikłań naczyniowych (**DM1**) i z powikłaniami naczyniowymi (**DM1+DC**) oraz z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1), a także w grupie dzieci zdrowych (GK). Wyniki przedstawiono jako średnie i 0,95 przedziały ufności. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu ANOVA. Różnice pomiędzy grupami DM1 i DM1+DC istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „*”.

IV.4.3. Charakterystyka pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 w zależności od stopnia wyrównania metabolicznego choroby, czasu trwania choroby oraz wieku zachorowania na cukrzycę typu 1

Stwierdzono, iż 47% pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1, u których wykazano objawy nefropatii i/lub retinopatii cukrzycowej należało do grupy pacjentów o bardzo złym stopniu wyrównania metabolicznego choroby ocenianym na podstawie poziomu HbA_{1c} (HbA_{1c} > 10%). Natomiast 23 % tych pacjentów charakteryzowało się poziomem HbA_{1c} pomiędzy 8% a 10%, a 17% z nich poziom HbA_{1c} między 7% a 8%. Tylko 13% pacjentów z udokumentowanymi późnymi powikłaniami naczyniowymi należało do grupy o prawidłowym wyrównaniu metabolicznym choroby (HbA_{1c} < 7%).

Zaobserwowano, że 82% pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 bez udokumentowanych powikłań charakteryzowało się poziomem HbA_{1c} poniżej 10% (Tab. IV.9.).

Aż 40% spośród badanych pacjentów z udokumentowanymi objawami mikroangiopatii cukrzycowej zachorowało na cukrzycę typu 1 powyżej 10 roku życia (Tab. IV.10). Jednak nie stwierdzono różnicy statystycznie istotniej w rozkładzie wieku ujawnienia się cukrzycy typu 1 pomiędzy grupą pacjentów bez udokumentowanych powikłań i grupą chorych z objawami mikroangiopatii cukrzycowej.

Ponadto u żadnego pacjenta z długotrwałą cukrzycą typu 1 nie stwierdzono późnych powikłań naczyniowych przed upływem 5 lat trwania choroby (Tab. IV.11).

Poziom HbA _{1c} [%] / Grupa badana	Pacjenci z powikłaniami (DM1+DC) (n= 30)	Pacjenci bez powikłań (DM1) (n= 85)
< 7,0	4 (13%)	9 (11%)
7,0 - 8,0	5 (17%)	41 (48%)
8,0 - 10,0	7 (23%)	20 (23%)
>10	14 (47%)	15 (18%)

Tab. IV.9. Zależność pomiędzy poziomem hemoglobiny glikowanej a wystąpieniem późnych powikłań naczyniowych u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1. Analizę statystyczną przeprowadzono testem χ^2 (p=0,005).

Wiek zachorowania na cukrzycę [lata]	Pacjenci z powikłaniami (DM1+DC) (n= 30)	Pacjenci bez powikłań (DM1) (n= 85)
< 5 lat	8 (27%)	17 (20%)
5 - 10	10 (33%)	31 (36%)
>10 lat	12 (40%)	37 (44%)

Tab. IV.10. Zależność pomiędzy wiekiem zachorowania na cukrzycę a występowaniem późnych powikłań cukrzycowych u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1. Analizę statystyczną przeprowadzono testem χ^2 . (p=0,3).

Czas trwania choroby [lata]	Pacjenci z powikłaniami (DM1+DC) (n= 30)	Pacjenci bez powikłań (DM1) (n= 85)
< 5 lat	0 (0%)	34 (40%)
5 - 10	20 (66%)	42 (50%)
>10 lat	10 (34%)	9 (10%)

Tab. IV.11. Zależność pomiędzy czasem trwania cukrzycy a występowaniem późnych powikłań cukrzycowych u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1. Analizę statystyczną przeprowadzono testem χ^2 (p<0,05).

Pacjenci z poziomem HbA_{1c} powyżej 10% charakteryzowali się istotnie statystycznie dłuższym czasem trwania choroby, istotnie wyższym poziomem cholesterolu całkowitego i trójglicerydów w porównaniu do grupy pacjentów z prawidłowym wyrównaniem metabolicznym cukrzycy (HbA_{1c} < 7%).

Zapotrzebowanie na insulinę było największe w grupie pacjentów, którzy charakteryzowali się najwyższym poziomem HbA_{1c} i było ono istotnie statystycznie wyższe od dobowej dawki insuliny, którą otrzymywali pacjenci z poziomem HbA_{1c} poniżej 10%.

Ponadto pacjenci z poziomem HbA_{1c} powyżej 10% w porównaniu z pacjentami z poziomem HbA_{1c} pomiędzy 7% a 10% charakteryzowali się dłuższym czasem trwania choroby, wyższym wskaźnikiem BMI, wyższym poziomem białka C-reaktywnego oraz dobowym zapotrzebowaniem na insulinę, jednak w zakresie tych parametrów nie uzyskano różnic istotnych statystycznie.

Ponadto w grupie pacjentów z poziomem HbA_{1c} powyżej 10% wykazano istotne różnice statystyczne w zakresie wielkości albuminurii w porównaniu z grupą chorych z poziomem HbA_{1c} poniżej 10%.

Nie wykazano natomiast istotnych różnic w zakresie badanych parametrów klinicznych i biochemicznych pomiędzy poszczególnymi grupami: z poziomem HbA_{1c} < 7%, HbA_{1c} 7%-8% i HbA_{1c} 8%-10%. Jednak zauważono, że wraz z pogarszającym się poziomem wyrównania metabolicznego choroby poziom trójglicerydów, wielkość ciśnienia tętniczego krwi oraz dobowe zapotrzebowanie na insulinę wzrasta, ale wzrost ten nie jest istotny statystycznie.

Biorąc pod uwagę stopień wyrównania metabolicznego poszczególnych chorych dalsza analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic w poziomach badanych adipocytokin pomiędzy grupami, jednak stwierdzono, że pacjenci z poziomem HbA_{1c} powyżej 10% charakteryzowali się wyższym stężeniem leptyny i adiponektyny w porównaniu z grupą pacjentów z poziomem HbA_{1c} poniżej 10% (tab. IV.12).

Parametr	1)HbA _{1c} < 7%	2)HbA _{1c} 7% -8%	3)HbA _{1c} 8%-10%	4)HbA _{1c} > 10%	p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₁₋₄	p ₂₋₃	p ₂₋₄	p ₃₋₄
n	15	44	23	33						
Wiek [lata]	14,5 ± 3,8	13,43 ± 3,43	14,62 ± 2,65	15,44 ± 2,36	0,68	0,99	0,84	0,49	0,04*	0,80
Wiek zachorowania [lata]	10,64 ± 4,12	7,35 ± 3,51	8,87 ± 3,99	8,29 ± 3,64	0,04*	0,57	0,27	0,44	0,73	0,95
Czas trwania choroby [lata]	3,92 ± 1,63	6,08 ± 3,12	5,75 ± 3,03	7,14 ± 3,64	0,17	0,4	0,01*	0,98	0,51	0,43
BMI [kg/m ²]	19,24 ± 2,33	19,29 ± 4,0	19,53 ± 1,83	20,21 ± 3,00	0,99	0,99	0,82	0,99	0,65	0,85
HbA _{1c} [%]	6,69 ± 0,42	7,70 ± 0,33	9,05 ± 0,71	11,76 ± 1,60	0,008*	0,00001*	0,000001*	0,00003*	0,000001*	0,0000001
Cholesterol całkowity [mg/dl]	164 ± 16	170 ± 25	168 ± 25	197 ± 38	0,94	0,98	0,006*	0,99	0,0007*	0,003*
LDL [mg/dl]	93 ± 13	97 ± 22	101 ± 35	118 ± 30	0,93	0,82	0,04*	0,93	0,003*	0,003*
HDL [mg/dl]	50 ± 10	53 ± 11	48 ± 7	48 ± 10	0,52	0,97	0,99	0,71	0,34	0,97
Trójglicerydy [mg/dl]	71 ± 25	84 ± 36	98 ± 49	147 ± 88	0,91	0,58	0,001*	0,79	0,0005*	0,02*
CRP [mg/l]	0,85 ± 0,55	1,02 ± 1,03	0,85 ± 0,49	1,21 ± 0,92	0,91	0,99	0,66	0,89	0,82	0,50
Albuminuria [mg/24h]	22,42 ± 23,77	16,47±18,36	16,35 ± 13,37	30,75 ± 42,70	0,91	0,93	0,82	0,99	0,047*	0,049*
Kreatynina [mg/dl]	0,82 ± 0,19	0,71± 0,11	0,77 ± 0,10	0,73 ± 0,12	0,06	0,80	0,22	0,28	0,91	0,67
Zapotrzebowanie na insulinę [j/kg/24h]	0,54 ± 0,21	0,77± 0,20	0,87±0,23	0,89 ± 0,19	0,02*	0,0005*	0,0009*	0,30	0,12	0,99
Skurczowe ciśnienie krwi [mmHg]	112 ± 11	114 ± 12	116±12	114 ± 8	0,96	0,84	0,72	0,95	0,84	0,99
Rozkurczowe ciśnienie krwi [mmHg]	69 ± 5	70 ± 9	71±7	72 ± 6	0,90	0,70	0,94	0,92	0,99	0,89
Leptyna [ng/ml]	5,28 ± 4,24	7,12 ± 8,84	6,81 ± 5,25	10,74 ± 10,72	0,97	0,99	0,60	0,97	0,43	0,50
Adiponektyna [µg/ml]	14,60 ± 5,29	15,12 ± 8,81	14,39 ± 7,35	18,88 ± 8,46	0,95	0,99	0,56	0,94	0,28	0,17

Tab. IV.12. Parametry kliniczne i biochemiczne dzieci z cukrzycą typu 1 długotrwałą z podziałem na grupy w zależności od stopnia wyrównania metabolicznego choroby. Wyniki przedstawiono jako średnie ± SD. n - liczba przypadków, BMI - indeks masy ciała, HbA_{1c} - hemoglobina glikowana, CRP- białko C reaktywne. Różnice między grupami istotne statystycznie (p<0,05) oznaczono symbolem „* ”.

IV.4.4. Analiza korelacji pomiędzy stopniem wyrównania metabolicznego cukrzycy a wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi u pacjentów z cukrzycą typu 1

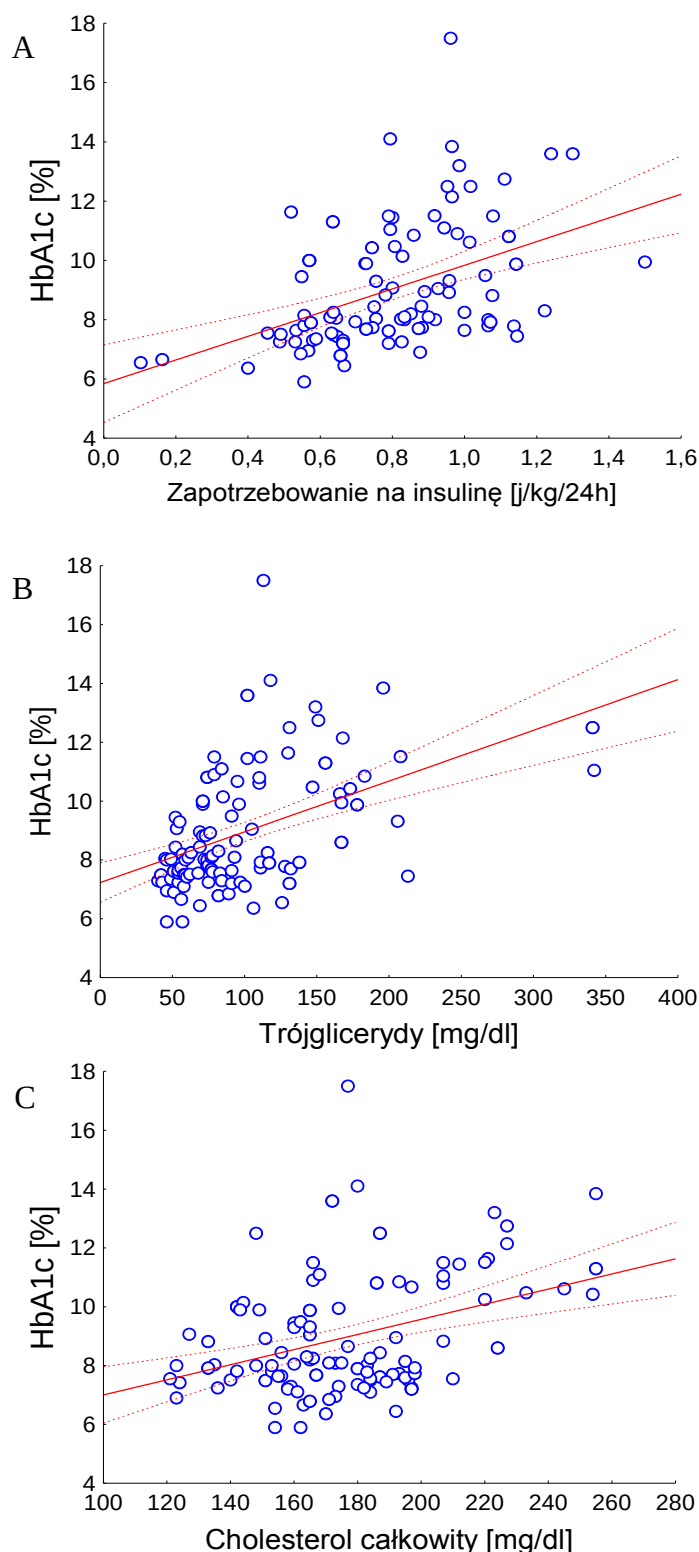
U dzieci z długotrwałą cukrzycą typu 1 stwierdzono dodatnią istotną statystycznie korelację pomiędzy poziomem HbA_{1c} a czasem trwania choroby, poziomem cholesterolu całkowitego, jego frakcji LDL-cholesterolu, poziomem trójglicerydów, białkiem C-reaktywnym oraz dobowym zapotrzebowaniem na insulinę (tab. IV.13, ryc. IV.24). Natomiast nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem wyrównania metabolicznego choroby a frakcją HDL-cholesterolu, ciśnieniem tętniczym krwi oraz albuminurią (tab. IV.13).

Parametr	HbA _{1c} [%]
Czas trwania choroby [lata]	R= 0,28; p= 0,01*
Cholesterol całkowity [mg/dl]	R= 0,48; p= 0,0001*
LDL-cholesterol [mg/dl]	R= 0,31; p= 0,001*
HDL-cholesterol [mg/dl]	R= - 0,15; p= 0,1
Trójglicerydy [mg/dl]	R= 0,48; p= 0,0001*
CRP [mg/l]	R= 0,20; p= 0,045*
Albuminuria [mg/24h]	R= 0,12; p= 0,2
Skurczowe ciśnienie krwi [mmHg]	R= 0,08; p= 0,38
Rozkurczowe ciśnienie krwi [mmHg]	R= 0,15; p= 0,1
Zapotrzebowanie na insulinę [j/kg/dobę]	R= 0,44; p= 0,0001*

Tab. IV.13. Korelacje pomiędzy poziomem HbA_{1c} a wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1. HbA_{1c} - hemoglobina glikowana, CRP - białko C reaktywne.

R - współczynnik korelacji rang Spearmana.

Korelacje istotne statystycznie (p<0,05) oznaczono symbolem „* ”.



Ryc. IV.24. Związek pomiędzy poziomem HbA_{1c} a wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1). R= współczynnik korelacji rang Spearmana. Punkty na wykresach odpowiadają poszczególnym przypadkom.

A) Korelacja pomiędzy poziomem HbA_{1c} a dobową dawką insuliny (R=0,44; p=0,0001).

B) Korelacja pomiędzy poziomem HbA_{1c} a stężeniem trójglicerydów (R=0,48; p=0,0001).

C) Korelacja między poziomem HbA_{1c} a stężeniem cholesterolu całkowitego (R=0,48, p=0,0001).

PODSUMOWANIE ROZDZIAŁU IV.4.:

Pacjenci z długotrwałą cukrzycą typu 1 i współistniejącymi późnymi powikłaniami naczyniowymi w porównaniu z pacjentami z długotrwałą cukrzycą typu 1, ale bez objawów mikroangiopatii naczyniowej charakteryzowali się istotnie dłuższym czasem trwania choroby oraz wyższym poziomem wydalania albuminy w moczu oraz istotnie wyższym poziomem leptyny i poziomem adiponektyny w surowicy. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w zakresie poziomu badanych adipocytokin uwzględniając stopień wyrównania metabolicznego u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1.

V. DYSKUSJA

Cukrzyca typu 1 jest obecnie jedną z najczęściej rozpoznawanych chorób przewlekłych w populacji dziecięcej. Szczególnie niepokojący jest fakt ciągłego wzrostu zapadalności na cukrzycę typu 1 w populacji wieku rozwojowego. Dokładne poznanie patogenezы rozwoju typu 1 i jej przewlekłych powikłań naczyniowych oraz prewencja i zwolnienie progresji uszkodzenia tkanek i narządów jest obecnie największym wyzwaniem dla diabetologów.

Mimo postępu w leczeniu cukrzycy, jej przewlekłe powikłania, w postaci mikroangopatii i makroangiopatii, stanowią główną przyczynę inwalidztwa, skrócenia czasu przeżycia oraz pogorszenia jakości życia pacjentów chorych na cukrzycę typu 1 [2].

Nefropatia i retinopatia cukrzycowa są najcięższymi późnymi powikłaniami rozwijającymi się u chorych z cukrzycą typu 1.

Głównym czynnikiem powodującym uszkodzenie naczyń i rozwój przewlekłych powikłań w przebiegu cukrzycy typu 1 jest hiperglikemia. Na obecnym etapie wiedzy wiadomo, że hiperglikemia przyczynia się do uszkodzenia tkanek, poprzez zwiększony napływ glukozy drogą szlaku poliowego, powstawania zaawansowanych końcowych produktów glikacji (AGEs, *advance glycation end products*), aktywacji kinazy białkowej C i stymulacji produkcji reaktywnych form tlenu [153]. Te drogi mogą prowadzić do dysfunkcji śródbłónka naczyń, zmniejszenia produkcji endogennych wazodilatatorów (tlenek azotu), uwalniania endogennych substancji wazokonstrykcyjnych (endotelina 1; angiotensyna II) oraz zwiększonej produkcji czynnika wzrostu śródbłónka naczyniowego (VEGF, *vascular endothelial growth factor*) przez komórki śródbłónka, a także produkcji cytokin prozapalnych [157]. Mimo istotnego wpływu wymienionych czynników na rozwój przewlekłych powikłań w przebiegu cukrzycy typu 1 nadal w znacznym stopniu ich etiologia i patogenezа pozostają nieznane.

Obecnie parametrami identyfikującymi pacjentów zagrożonych rozwojem nefropatii i retinopatii cukrzycowej, jest podwyższone dobowe wydalenie albuminy w moczu i podwyższone stężenie kreatyniny w surowicy krwi oraz patologiczne

zmiany stwierdzone w badaniu okulistycznym obejmującym: badanie dna oka, ostrości wzroku i widzenia barw [1]. Liczni autorzy uważają obecność mikroalbuminurii za najważniejszy czynnik ryzyka rozwoju nefropatii cukrzycowej u pacjentów z cukrzycą typu 1 [88, 91].

Jedynie sporadycznie, u pacjentów z DM, mikroalbuminurię stwierdza się w ciągu początkowych 5 lat trwania choroby. Najczęściej stwierdzić ją można po co najmniej 6 latach od rozpoznania cukrzycy, a po około 20-letnim czasie choroby występowanie mikroalbuminurii u pacjentów osiąga nawet 50 – 60% [158].

W prezentowanej obecnie pracy nie stwierdzono mikroalbuminurii w ciągu 5 lat trwania choroby u żadnego pacjenta, z DM 1 długotrwałą. Czas trwania cukrzycy typu 1 u pacjentów z cukrzycą typu 1 i ze stwierdzoną mikroalbuminurią wynosił średnio ponad 7 lat.

W doniesieniach z ostatnich lat podkreśla się, że mikroalbuminuria jest nie tylko objawem rozwoju DN, ale także towarzyszy zmianom rozwijającym się w oku w przebiegu tej choroby [159]. Badanie EURODAB wykazało, że pacjenci z DM 1 i współistniejącą retinopatią charakteryzowali się zwiększonym wydalaniem albuminy w moczu i wyższymi wartościami ciśnienia tętniczego, w porównaniu z pacjentami, u których nie stwierdzono zmian w obrębie wzroku [160].

Również w obecnej pracy stwierdzono istotnie statystycznie wyższe dobowe wydalanie albuminy w moczu oraz znamienne wyższe wartości ciśnienia skurczowego i rozkurczowego krwi u dzieci z długotrwałą cukrzycą typu 1 i ze stwierdzoną mikroangiopatią cukrzycową w porównaniu z grupą pacjentów bez stwierdzonych objawów powikłań naczyniowych.

Stale prowadzone są liczne badania określające przyczynę i częstość nefropatii oraz retinopatii dzieci chrujących na cukrzycę typu 1 [91, 161]. Z większości prac wynika, że częstość rozwoju zmian w nerkach i w obrębie narządu wzroku jest niższa u dzieci, u których cukrzyca typu 1 ujawniła się przed okresem pokwitania, z czasem trwania cukrzycy od 5 do 10 lat, prawidłowymi poziomami lipidów, wartościami ciśnienia tętniczego w zakresie normy oraz prawidłowym poziomem wyrównania metabolicznego choroby [162].

W swoich badaniach Kulberg i wsp. stwierdzili, że ryzyko rozwoju retinopatii

cukrzycowej zależy przede wszystkim od wieku ujawniania się cukrzycy typu 1. W badaniu tym wpływ czasu trwania choroby i osiągnięte poziomy w czasie kontroli glikemii nie zostały udokumentowane jako czynniki ryzyka [163]. Podobnie Donaghe i wsp., na podstawie prospektywnych badań, wykazali, że wiek ujawnienia się choroby poniżej 5 roku życia opóźnia znacznie rozwój nefropatii i retinopatii w przebiegu cukrzycy [164]. Odmienne są obserwacje Svenson i wsp., którzy stwierdzili, że nieprawidłowy poziom wyrównania metabolicznego cukrzycy, w okresie pierwszych 5 lat trwania choroby, niezależnie od wieku ujawnienia się cukrzycy istotnie przyspiesza czas wystąpienia u nich retinopatii cukrzycowej [165].

W obserwacjach własnych stwierdzono fakt, że zmiany na dnie oka oraz mikroalbuminuria nie ujawniają się u pacjentów z cukrzycą typu 1 przed upływem 5 lat trwania choroby. Analiza statystyczna nie wykazała natomiast związku między wiekiem ujawnienia się cukrzycy a ryzykiem rozwoju mikroangiopatii cukrzycowej. Badania wykazały jednak, że aż 73 % pacjentów, u których stwierdzono powikłania naczyniowe zachorowało na cukrzycę typu 1 powyżej 5 roku życia. Ponadto w przeprowadzonych badaniach wykazano, że poziom HbA_{1c} powyżej 10% wpływał istotnie na wzrost wydalania albuminy w moczu i rozwój zmian cukrzycowych w narządzie wzroku.

Obecnie wiadomo, iż nim dojdzie do ujawnienia się klinicznych zmian na dnie oka i pojawienia się mikroalbuminurii u chorych z DM 1, w ocenie immunohistopatologicznej tkanek już widoczne są zmiany w siatkówce i kłębuszku nerkowym [166].

Dlatego też przedmiotem obecnie prowadzonych prac badawczych jest poszukiwanie jak najwcześniejszych markerów uszkodzenia nerek i narządu wzroku, które mogą występować w początkowym etapie choroby, gdy ogólnie znane i znane wskaźniki funkcji wyżej wymienionych narządów nie wykazują jeszcze nieprawidłowości [99, 161].

Jest szereg badań wskazujących na rolę czynników zapalnych, takich jak TNF α (*tumor necrosis factor- α*) i IL-6 (*interleukin-6*), jako nowych markerów ryzyka rozwoju cukrzycy i jej powikłań [79, 80, 100]. W coraz większej liczbie prac wykazano, iż cytokiny o działaniu pro- i antyzapalnym wydają się odgrywać istotną

rolę zarówno w rozwoju cukrzycy typu 1 jak i jej późnych powikłań [80, 102, 167].

Tkanka tłuszczowa, przez długi czas, była uznawana jedynie za miejsce gromadzenia i przechowywania energii, jednak coraz liczniejsze badania wykazują, że należy ją uznać za organ endokrynną, produkujący wiele cytokin, o dużej aktywności biologicznej m. in. leptynę i adiponektynę [104].

Natomiast nieliczne są jeszcze doniesienia na temat roli adipocytokin w patogenezie cukrzycy typu 1 oraz ich udział w rozwoju późnych powikłań w postaci mikroangiopatii cukrzycowej [169].

NOWO ROZPOZNANA CUKRZYCA TYPU 1

Pomimo niekwestionowanej roli i wartości diagnostycznej przeciwciał przeciw wyspowych w rozpoznawaniu autoimmunologicznej postaci cukrzycy typu 1, nadal brak jest markera, który mógłby sygnalizować ryzyko rozwoju tej choroby. Nieliczne doniesienia zwracają uwagę na istotną rolę adipocytokin w rozwoju chorób o podłożu autoimmunologicznym [168]. W obecnej pracy oceniano u pacjentów z nowo rozpoznaną DM 1 stężenie leptyny. *W tej grupie chorych stwierdzono istotnie niższy poziom leptyny w porównaniu z grupą dzieci zdrowych, jak również w porównaniu z grupą pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1. Ponadto wykazano istotną korelację pomiędzy stężeniem tej adipocytokiny a indeksem masy ciała (BMI).* Podobnie wyniki, u dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, uzyskano w badaniach Morales i wsp. [169]. Autorzy pracy zaobserwowali istotnie niższe stężenie leptyny w momencie rozpoznania cukrzycy typu 1, w porównaniu z grupą kontrolną, a z drugiej strony wykazali wzrost jej stężenia do poziomu normy między 3 a 5 dobą od moment rozpoczęcia insulinoterapii. Według Morales i wsp. zastosowanie insulinoterapii i uzyskanie w trakcie leczenia przyrostu masy ciała u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 stymuluje produkcję leptyny [169]. Również Kiess i wsp. potwierdzili obniżenie stężenia leptyny w momencie rozpoznania cukrzycy typu 1 u dzieci i późniejszy jej wzrost wraz z czasem trwania choroby [170].

Potwierdzeniem tego zjawiska mogą być uzyskane dalsze wyniki prac badawczych,

przebiegach prowadzonych przez niemieckich naukowców [109, 170] u dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1. W tej grupie pacjentów oceniano parametry kliniczne, biochemiczne oraz poziom leptyny i jej rozpuszczalnego receptora (s-OB-R), przed włączeniem leczenia oraz po zastosowaniu insulinoterapii. Wykazali oni istotny wzrost stężenia leptyny w surowicy po włączeniu insulinoterapii oraz obniżenie stężenia receptora sOB-R. W badaniu tym przed zastosowaniem leczenia insuliną, u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, nie stwierdzono istotnej korelacji między stężeniem leptyny a BMI, poziomem glukozy oraz parametrami dekomensacji metabolicznej. Dopiero po około 48 godzinach od włączenia insulinoterapii stwierdzono pozytywną korelację między stężeniem leptyny a BMI. Autorzy pracy sugerują, iż dekomensacja metaboliczna u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 związana jest ze zmianami w osi leptyny i w tej grupie pacjentów, w stanie niewyrównania metabolicznego, początkowo surowiczy poziom sOB-R może być podwyższony, a leptyny obniżony. Rozpuszczalny receptor leptyny (sOB-R) może modulować jej działanie, konkurując z receptorami na błonach komórkowych o ligand. Powoduje to niewrażliwość na leptynę, co może skutkować zmniejszeniem zużywania energii w stanie katabolizmu, jaki występuje u chorych z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1. Tak więc wzrost stężenia rozpuszczalnego receptora leptyny wydaje się być mechanizmem kompensacyjnym niedoboru substratów w stanie niedostatku energii [170]. Obniżenie stężenia leptyny u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 i stopniowy jego wzrost w czasie trwania choroby stwierdzono również w badaniach Martas-Moreno i wsp. [224]. *W przeprowadzonych badaniach, podobnie do wyników Kratzsch i wsp., nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie stężenia leptyny w zależności od stopnia ciężkości zaburzeń gospodarki kwasowo-zasadowej występujących w momencie rozpoznania cukrzycy typu 1* [165]. *Podobnie jak w pracy Morales, w przeprowadzanym badaniu, nie wykazano także korelacji między stężeniem leptyny i poziomem HbA_{1c} oraz parametrami gospodarki lipidowej u dzieci ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1* [169].

Z danych z piśmiennictwa wiadomo, iż autoimmunizacyjna odpowiedź w DM 1 wynika z zaburzeń równowagi między limfocytami pomocniczymi (CD4+) Th1 i Th2 [19, 171]. Limfocyty Th1 dominują w zjawiskach autoimmunizacyjnych i wydzielają one cytokiny mające charakter pozapalny, zaś limfocyty Th2 uwalniają cytokiny antyzapalne, hamujące komórki Th1 i chroniące przed wystąpieniem cukrzycy typu 1 [172]. Z nielicznych jeszcze prac wynika, iż leptyna może ukierunkowywać odpowiedź limfocytów pomocniczych (Th) do prozapalnego fenotypu Th1, poprzez swój receptor na limfocytach CD4+ [126]. Autorzy nielicznych jeszcze prac wykazali wyższe stężenia leptyny, w porównaniu z osobami zdrowymi, u pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi, takimi jak: toczeń rumieniowy [173], zespół Behceta [174] oraz idiopatyczna trombocytopenia [130]. Z kolei Matarese i wsp. opisali leptynę jako marker aktywności choroby u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym [175]. W tej grupie pacjentów wykazano ujemną korelację stężenia leptyny z liczbą komórek T regulatorowych CD4+CD25+ [175]. Spostrzeżenie to może być potwierdzeniem prozapalnego działania leptyny, przyczyniającego się do rozwoju chorób o podłożu autoimmunologicznym.

W wykonanej pracy zbadano związek pomiędzy stężeniem leptyny a poziomem przeciwciał charakterystycznych dla destrukcji komórki β trzustki – przeciwciał przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego. W pracy stwierdzono ujemną istotną statystycznie korelację pomiędzy poziomem leptyny u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 a mianem przeciwciał anty-GAD. Odmienne wyniki uzyskano w badaniu Gilliam i wsp., w którym oceniano stężenie leptyny u osób z grupy ryzyka rozwoju cukrzycy typu 1 [176]. W pracy tej oceniano ryzyko ujawnienia się cukrzycy na podstawie obecności przeciwciał przeciw wyspowych i przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego oraz genotypu predysponującego do cukrzycy typu 1 (HLA DRB1*03 lub DRB1*04). Wykazano, iż wyższe stężenie leptyny występuje u osób bardziej zagrożonych autoimmunologiczną postacią typu 1 cukrzycy. Autorzy sugerują, że być może wyższe stężenie leptyny nasila reakcję autoimmunologiczną lub niższe stężenie leptyny zapewnia ochronę, przez powstrzymanie rozwoju procesu immunologicznego [176]. Potwierdzeniem tej hipotezy mogą być badania Matarese

i wsp., którzy w badaniu eksperymentalnym na zwierzętach wykazali istotną rolę leptyny w rozwoju cukrzycy typu 1 u myszy (*non-obese diabetic*). Autorzy tych badań stwierdzili, iż leptyna przyspiesza początek choroby, poprzez istotne zwiększenie produkcji IFN- γ przez limfocyty T, stymulując tym samym autoimmunologiczną destrukcję komórek β trzustki [133]. Kolejnym potwierdzeniem dokumentującym rolę leptyny w patogenezie cukrzycy typu 1, są badania Lee i wsp., w których wykazano, iż spontaniczna mutacja receptora dla leptyny u myszy, predysponowanych do rozwoju cukrzycy typu 1, zapobiega jej rozwojowi poprzez hamowanie aktywacji komórek T efektorowych [177].

Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań wskazują, że być może przed ujawnianiem się choroby stężenie leptyny wzrasta, a następnie w momencie dekompensacji metabolicznej ustroju towarzyszącej ujawnieniu się cukrzycy u chorego następuje jej obniżenie, czego potwierdzeniem są wyniki uzyskane w niniejszej pracy i w badaniach innych autorów [165, 170, 224]. Ujawnienie się cukrzycy typu 1 najczęściej wiąże się ze znaczną utratą masy ciała, która ulega stopniowej normalizacji po włączeniu leczenia insuliną. Oprócz zaburzeń równowagi energetycznej organizmu być może w momencie ujawnienia się cukrzycy typu 1 o podłożu autoimmunologicznym dochodzi do silnej kontregulacji ze strony cytokin o działaniu przeciwzapalnym, skutkującej tak znacznym obniżeniem stężenia leptyny w surowicy krwi u pacjenta z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1.

W przeprowadzonych badaniach, u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, oprócz stężenia leptyny oceniano także poziom adiponektyny. *W tej grupie chorych stwierdzono istotnie wyższy poziom adiponektyny w porównaniu z grupą kontrolną oraz istotnie niższy poziom w porównaniu z grupą pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1.*

Inni autorzy, w swoich badaniach, wykazali związek podwyższonego poziomu cytokin prozapalnych (IL-1 β , MCP, TNF- α , IL-6) oraz adiponektyny z destrukcją komórek β wysp trzustkowych [178, 179]. Nieliczne są jednak prace dotyczące analizy stężeń adiponektyny w odniesieniu do innych parametrów klinicznych i biochemicznych określanych u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1.

W obecnie prezentowanej pracy nie stwierdzono istotnych zależności między stężeniem adiponektyny a stężeniem C-peptydu, mianem przeciwciał charakterystycznych dla destrukcji komórek β trzustki oraz innych parametrów biochemicznych badanych u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1. Nie stwierdzono także istotnych różnic w poziomie adiponektyny w odniesieniu do stopnia ciężkości zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej w momencie ujawnienia się cukrzycy.

Dotychczas nie stwierdzono nadal jednoznacznych zależności między sekrecją endogennego C-peptydu a stężeniem adiponektyny. W swoich badaniach Pflieger i wsp. stwierdzili, iż pacjenci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, będący w okresie remisji charakteryzują się niższym stężeniem adiponektyny, która wykazuje ujemną zależność z poziomem C-peptydu [180]. Stwierdzili oni także podwyższone jej poziom u pacjentów z cukrzycą typu 1, źle wyrównaną metabolicznie i trwającą 6 miesięcy. Autorzy zasugerowali, że wzrost poziomu adiponektyny związany jest z mniejszym zapasem endogennej insuliny oraz wzrasta wraz z pogorszeniem stopnia wyrównania metabolicznego już na początku choroby [175]. Być może wyższy osoczowy poziom adiponektyny u pacjentów w momencie ujawnienia się cukrzycy w porównaniu z osobami zdrowymi wynika z próby przeciwdziałania aktywności cytokin zapalnych i toczącej się reakcji autoimmunologicznej w organizmie chorego.

W obecnej pracy u pacjentów, u których w momencie ujawnienia się cukrzycy typu 1 stwierdzono kwasicę metaboliczną ciężkiego stopnia stwierdzono najniższy poziom adiponektyny w porównaniu do pozostałych pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1. Może to przemawiać za znaczącą nierównowagą w zakresie czynników pro- i antyzapalnych na korzyść prozapalnych, czego dowodem może być niższy poziom adiponektyny i wyższy poziom leptyny w stosunku do pacjentów z nowo rozpoznaną DM1, u których nie stwierdzono ciężkiej kwasicy, jednak różnice te nie były istotne statystycznie. Wyniki niniejszej pracy są zgodne z wynikami niemieckich badaczy, którzy stwierdzili niższe stężenie adiponektyny przy rozpoznaniu DM 1 ze stopniowym jej wzrostem w czasie trwania choroby [181].

DŁUGOTRWAŁA CUKRZYCA TYPU 1

W ostatnich latach prowadzone są badania określające rolę tkanki tłuszczowej jako ważnego narządu wydzielania wewnętrznego, produkującego między innymi leptynę i adiponektynę.

Dotychczas opublikowane zostały nieliczne prace na temat roli adipocytokin w przebiegu cukrzycy typu 1 oraz w rozwoju jej późnych powikłań naczyniowych, a wyniki tych prac są niejednoznaczne i kontrowersyjne. W niektórych z nich wykazano wyższe stężenie leptyny u dzieci dłużej chorujących na cukrzycę typu 1 i z współistniejącymi objawami mikroangiopatii cukrzycowej [178].

Podobne wyniki uzyskano w niniejszej pracy, u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 stwierdzono wyższe stężenie leptyny w porównaniu do pacjentów z nowo rozpoznana cukrzycą typu 1, natomiast niższe w stosunku do grupy kontrolnej. Dalsza analiza statystyczna wykazała, że pacjenci z długotrwałą DM1 i udokumentowanymi objawami późnych powikłań cukrzycowych charakteryzowali się wyższym stężeniem leptyny w porównaniu do pacjentów bez stwierdzonej mikroangiopatii cukrzycowej, jednak poziom ten był nadal niższy w porównaniu z grupą kontrolną.

Odmienne wyniki uzyskano w badaniach El-Maksud i wsp., gdyż stwierdzili oni niższy poziom leptyny u pacjentów z udokumentowaną mikroalbuminurią w porównaniu do chorych bez objawów nefropatii cukrzycowej [182]. Z kolei Bideci i wsp. w swoich badaniach wykazali wyższy poziom leptyny u wszystkich dzieci z cukrzycą typu 1 w porównaniu z grupą kontrolną i jej dodatnią korelację z czasem trwania choroby [183]. Autorzy Kies i wsp. stwierdzili podwyższony poziom tej adipocytokiny u starszych dzieci, dłużej chorujących na cukrzycę typu 1 i wykazali oni dodatnią korelację leptyny z wiekiem pacjenta i jego indeksem masy ciała (BMI), a brak zależności z czasem trwania choroby, poziomem HbA_{1c}, dawką dobową insuliny, poziomem glikemii oraz cholesterolu i trójglicerydów. *Podobnie do niemieckiej grupy badawczej w obecnej pracy stwierdzono istotną dodatnią korelację między poziomem leptyny a wiekiem, czasem trwania choroby oraz wskaźnikiem masy ciała u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1. W przeciwieństwie do autorów niemieckich Kies i wsp. w obecnej pracy wykazano u*

pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem leptyny a poziomem wyrównania metabolicznego choroby (HbA_{1c}), natomiast nie stwierdzono, zgodnie z wynikami badań Galer i wsp., zależności pomiędzy poziomem leptyny a wielkością ciśnienia tętniczego krwi, dobową dawką insuliny oraz parametrami gospodarki lipidowej [170, 181].

Autorzy Morales i wsp. tłumaczą, iż podwyższony poziom leptyny u dzieci z cukrzycą typu 1 może być efektem leptynooporności spowodowanej obwodowym hiperinsulinizmem wynikającym z niewyrównania metabolicznego choroby [169]. Z kolei Szalecki i wsp. sugerują, że niższy poziom leptyny u dzieci z cukrzycą typu 1, z prawidłowym wyrównaniem metabolicznym choroby jest związany z wyższym stężeniem receptora s-OBR, co przekłada się na niższy wskaźnik wolnej leptyny i być może stanowi mechanizm ochronny przed hiperleptynią [184, 185]. *W przeprowadzonym badaniu stwierdzono wyższe poziomy leptyny u pacjentów płci żeńskiej w prównaniu z pacjentami płci męskiej w grupie dzieci z cukrzycą typu 1 długotrwałą i w grupie kontrolnej.* Podobne wyniki uzyskano w kilku badaniach, a różnica ta wynika prawdopodobnie z różnej dystrybucji i zawartości tkanki tłuszczowej u dziewczynek i chłopców [197, 198]. Podobnie jak Myers i wsp. nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w stężeniu leptyny w obrębie badanych grup w zależności od stopnia dojrzałości płciowej [229]. *W obecnej pracy stwierdzono, iż wyższe poziomy leptyny wykazywali pacjenci z gorszym poziomem wyrównania metabolicznego i pacjenci ci również charakteryzowali się wyższym wskaźnikiem masy ciała.* Być może do zmiany stężenia leptyny dochodzi w mechanizmie opisywanym przez Morales, a może wyższy poziom leptyny jest czynnikiem powodującym nieprawidłowe wyrównanie metaboliczne i nasilenie procesów zapalnych toczących się w naczyniach pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1.

Powszechnie wiadomo, iż nieprawidłowy profil lipidowy u pacjentów z cukrzycą może być czynnikiem ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego [228]. Jednak badania oceniające zaburzenia w gospodarce lipidowej u pacjentów z cukrzycą typu 1 są nie jednoznaczne i trudne w interpretacji. Niektórzy autorzy w swoich pracach wykazywali nieprawidłowy profil parametrów lipidowych u

dzieci z DM 1, mimo prawidłowego poziomu wyrównania metabolicznego cukrzycy [186, 187], ale z dodatnim wywiadem rodzinnym w kierunku chorób układu sercowo-naczyniowego [188]. Inne badania wskazują, że w trakcie trwania cukrzycy typu 1 stężenie cholesterolu frakcji LDL i HDL oraz trójglicerydów jest zależne od wyrównania metabolicznego [189]. We wcześniejszych badaniach własnych, podobnie do Jankowskiej i wsp., stwierdzono znamienne dodatnią korelację między poziomem HbA_{1c} a poziomem trójglicerydów, cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL-cholesterolu u pacjentów z DM 1 długotrwałą [190, 191]. Bideci i wsp. w swoich pracach nie wykazali korelacji pomiędzy stężeniem leptyny a stężeniem cholesterolu, jego frakcji oraz trójglicerydów i przeciwnie do uzyskanych wyników w niniejszej pracy nie stwierdzili oni korelacji między poziomem leptyny a poziomem HbA_{1c} [183]. W badaniu Myśliwiec i wsp. nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie gospodarki lipidowej, porównując grupę dzieci z cukrzycą typu 1 z grupą dzieci zdrowych, natomiast wykazano istotne różnice w poziomie cholesterolu i jego frakcji LDL między pacjentami z cukrzycą typu 1 bez i ze stwierdzoną mikroalbuminurią oraz potwierdzono wpływ poziomu HbA_{1c} i czasu trwania choroby na parametry gospodarki lipidowej [192]. *W obecnej pracy stwierdzono istotnie wyższy poziom cholesterolu całkowitego w grupie pacjentów z bardzo złym wyrównaniem metabolicznym choroby (HbA_{1c}>10%) w porównaniu do pozostałych grup pacjentów uwzględniając poziom HbA_{1c}. Natomiast nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie parametrów gospodarki lipidowej porównując grupę pacjentów z udokumentowaną mikroangiopatią cukrzycową z grupą pacjentów bez objawów późnych powikłań.* Podobne wyniki uzyskała Lipińska i wsp., która nie stwierdziła znamiennych różnic między parametrami gospodarki lipidowej porównując pacjentów z cukrzycą typu 1 z cechami retinopatii nieproliferacyjnej z pacjentami bez powikłań naczyniowych [193].

Z kolei porównując grupę pacjentów z cukrzycą typu 1 długotrwałą oraz grupę kontrolną istotną różnicę, z wyższym ich stężeniem u pacjentów z DM1, wykazano wyłącznie w zakresie poziomu trójglicerydów. Wyniki te nie są zgodne z obserwacjami autorki Głowińska i wsp., która nie stwierdziła żadnych

znamiennych różnic w zakresie parametrów gospodarki lipidowej porównując dzieci z cukrzycą typu 1 z dziećmi zdrowymi [194].

W obecnej pracy, podobnie do badań Myśliwiec i wsp., w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1, wykazano istotną dodatnią korelację między poziomem HbA_{1c} a poziomem cholesterolu całkowitego, jego frakcją LDL oraz najsilniejszy związek z poziomem trójglicerydów. Natomiast w wykonanych analizach nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy stężeniem leptyny a parametrami gospodarki lipidowej u dzieci z długotrwałą DM 1.

Pojawiają się ostatnio badania, które sugerują, że poziom cholesterolu może być nie zależnym czynnikiem nefropatii cukrzycowej, jednak dopiero w okresie jawnych zmian w obrębie nerek [195]. Autor tej pracy uważa, iż podwyższone wydalenie albuminy z moczem może znacznie zaburzyć metabolizm w gospodarce lipidowej, a powstała w ten sposób dyslipidemia może prowadzić do dalszej progresji zmian w nerkach w przebiegu cukrzycy, jednak dopiero kiedy ściana naczyń włosowatych w obrębie kłębuszka nerkowego jest już poważnie uszkodzona [195].

W obecnej pracy stężenie kreatyniny w surowicy różnił się znamienne statystycznie porównując grupę dzieci z przewlekłą cukrzycą typu 1 z grupą kontrolą i grupą dzieci z nowo rozpoznaną chorobą. Natomiast nie stwierdzono takiej różnicy porównując pacjentów z mikroalbuminurią i bez mikroalbuminurii. Potwierdzono wyniki uzyskane przez Myśliwiec, że dotychczas powszechnie używany marker oceny funkcji nerek, poziom kreatyniny, nie jest dobrym wczesnym markerem rozwoju mikroalbuminurii [196].

Podobnie jak większość autorów, zajmujących się rolą leptyny w cukrzycy, w niniejszej pracy wykazano istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem leptyny a indeksem masy ciała (BMI) pacjentów chorujących na cukrzycę typu 1 [181, 183]. W dotychczas opublikowanych pracach opisywano fakt, iż pacjenci z otyłością i nadmierną ilością tkanki tłuszczowej, wykazują wyższe stężenia leptyny [182, 197, 198]. Matarese i wsp. tłumaczą to zjawisko leptynoopornością oraz zaburzeniami równowagi limfocytów Th1/Th2 w tej grupie pacjentów [126].

Obiektem prowadzonych prac badawczych są próby wyjaśnienia mechanizmu aktywacji układu immunologicznego u osób z cukrzycą typu 1 i z

rozwijającą się nefropatią i retinopatią cukrzycową. Znaleźć można kilka hipotez próbujących wyjaśnić obecność zapalenia u osób z cukrzycą typu 1. Jedna z tych hipotez zakłada, że nieprawidłowy poziom wyrównania metabolicznego i hiperglikemia są głównymi przyczynami wzrostu poziomu cytokin prozapalnych i adipocytokin.

Potwierdzeniem faktu toczącego się stanu zapalnego może być wykazane w prezentowanej pracy wyższe stężenie białka C-reaktywnego w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 w porównaniu z pozostałymi badanymi grupami. Stwierdzono także istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem białka C-reaktywnego a stężeniem leptyny i poziomem HbA_{1c} w tej grupie pacjentów. Tak więc, wyższe stężenie leptyny i nieprawidłowe wyrównanie metaboliczne choroby mogą być przyczyna nasilenia toczącego się przewlekłego stanu zapalnego u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1.

W pracy analizowano także związek pomiędzy poziomem wyrównania metabolicznego cukrzycy a poziomem leptyny i wykazano istotną dodatnią zależność między poziomem HbA_{1c} a stężeniem leptyny, co może potwierdzać współdziałanie tych czynników w rozwoju późnych powikłań cukrzycowych. Poziom wyrównania metabolicznego ma istotne znaczenie w rozwoju późnych powikłań cukrzycowych. W obecnej pracy stwierdzono, że 47% pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1, u których wykazano objawy mikroangiopatii cukrzycowej należało do grupy pacjentów o bardzo złym stopniu wyrównania metabolicznego choroby (HbA_{1c} > 10%). Znane są badania, w których wykazano rozwój późnych powikłań cukrzycowych u osób z cukrzycą typu 1 pomimo prawidłowego poziomu wyrównania metabolicznego cukrzycy. W niemieckich badaniach Dane i wsp. nie stwierdzili jednoznacznych zależności między wieloletnią kontrolą glikemii a powstaniem retinopatii cukrzycowej u pacjentów z cukrzycą typu 1 [199]. Przeliczni autorzy sugerują, iż nieprawidłowa kontrola glikemii jest ważnym, ale nie jedynym czynnikiem ryzyka wystąpienia mikroangiopatii cukrzycowej [88, 199].

Inna hipoteza, próbująca wyjaśnić przyczynę aktywacji układu immunologicznego, u pacjentów z przewlekłą cukrzycą zakłada, że wzrost stężenia

cytokin pozapalnych i adipocytokin, w tej grupie pacjentów, może być związany ze stanem przewlekłego niedokrwienia i niedotlenienia narządów, które w okresie uszkodzenia same mogą być źródłem produkcji cytokin [167]. Wydaje się, że przedstawione powyżej hipotezy nie wykluczają się nawzajem. Możliwe jest, iż źródłem wyższych poziomów cytokin prozapalnych i adipocytokin we krwi pacjentów, z jednej strony są pobudzane komórki immunologiczne w okresie złego i nieprawidłowego wyrównania metabolicznego choroby, a także uszkodzone obwodowe narządy w wyniku zaburzeń w ich mikrokrażeniu, a drugiej strony wyższe poziomy cytokin zapalnych mogą być wynikiem toczącego się procesu autoimmunizacyjnego, który został zapoczątkowany jeszcze na etapie stanu przedcukrzycowego (*prediabetes*).

Na podstawie licznych, szeroko prowadzonych badań nad rozwojem późnych powikłań cukrzycowych stwierdzono, że zmiany w obrębie narządu wzroku i nerkek w cukrzycy typu 1 u pacjentów w wieku rozwojowym mogą mieć miejsce już w początkowych latach trwania cukrzycy. Wydaje się, że w tym czasie mogą być one jeszcze prawdopodobnie odwracalne. Pierwsze miesiące i lata trwania choroby, które przypadają na etap dzieciństwa i młodości wydają się być najwłaściwszym momentem do próby podjęcia odpowiedniego postępowania terapeutycznego zanim rozwiną się nieodwracalne zmiany strukturalne w narządzie wzroku i w nerce.

W badaniach prowadzonych przez Wolf i wsp. wykazano, iż leptyna ma bezpośredni wpływ na patofizjologię zmian w nerkach. W komórkach endotelium kłębuszków nerkowych leptyna stymuluje, już we wczesnym okresie rozwoju nefropatii cukrzycowej, proliferację tych komórek, zwiększa syntezę TGF- β 1 i produkcję kolagenu typu IV. W komórkach mezangium leptyna powoduje zwiększoną syntezę receptora typu II dla TGF- β 1, stymuluje transport glukozy oraz produkcję kolagenu I. Dane te sugerują, iż leptyna odgrywa parakrynną interakcję, w której komórki śródbłónka wydzielają TGF- β . Z badań tych wynika, że nerka nie jest związana tylko z metabolizmem leptyny, ale także jest celem dla działania tego białka w okresie rozwoju nefropatii cukrzycowej [137]. Wolf i wsp. stwierdzili także, że leptyna może wpływać na proces angiogenezy poprzez indukowanie nabłonkowego czynnika wzrostu (VEGF) i supresję PEDF (najsilniejszego inhibitora

angiogenezy w oku) w komórkach nabłonka naczyń siatkówki [135, 136].

W niniejszej pracy, analizując stężenie leptyny u pacjentów z cukrzycą typu 1 w zależności od obecności późnych powikłań naczyniowych, stwierdzono, iż pacjenci z udokumentowaną mikroangiopatią wykazywali wyższe stężenie leptyny w stosunku do grupy pacjentów bez objawów nefropatii późnych powikłań naczyniowych.

Podsumowując, można stwierdzić, iż leptyna może odgrywać znaczącą rolę w patogenezie późnych powikłań cukrzycowych. Jej stopniowe wzrastanie u pacjentów z gorszym wyrównaniem metabolicznym choroby oraz z pojawiającymi się późnymi powikłaniami cukrzycowymi może potwierdzać jej udział w przewlekłej reakcji zapalnej prowadzącej do uszkodzenia nerek i narządu wzroku w przebiegu cukrzycy. Należy brać pod uwagę zarówno modulacyjne działanie leptyny na komórki układu immunologicznego, jak również bezpośrednie na narząd wzroku i kłębuszki nerkowe.

Drugą adipocytokiną, która w ostatnim czasie zdobyła ogromne zainteresowanie badaczy zajmujących się cukrzycą typu 1, jest adiponektyna, uważana za cytokinę o działaniu przeciwzapalnym, przeciw miażdżycowym i kardioprotekcyjnym [200]. Doniesienia naukowe z ostatnich lat sugerują, iż wydzielanie cytokin antyzapalnych u osób z DM 1 może być niewystarczające w celu ograniczenia toksycznego efektu działania prozapalnych prozapalnych na narząd wzroku i nerki.

W badaniu epidemiologicznym nad powikłaniami cukrzycowymi (The Pittsburg Epidemiology of Diabetes Complcations Study) wykazano, że poziom adiponektyny może odwrotnie korelować z ryzykiem wystąpienia choroby naczyń wieńcowych u dorosłych pacjentów z cukrzycą typu 1 [230]. Badania nad rolą adiponektyny są jednak głównie skupione na pacjentach chorych na cukrzycę typu 2. Nieliczne są natomiast prace oceniające poziom adiponktyny u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1 i jej udział w rozwoju mikroangiopatii cukrzycowej. Ponadto analizy oceniające poziom adiponektyny w tej grupie chorych są często kontrowersyjne

W badaniach Morrales i wsp. nie stwierdzono istotnych różnic w poziomie adiponektyny u dzieci z cukrzycą typu 1 w porównaniu z grupą dzieci zdrowych

[169]. Z kolei badania Celi i wsp. wykazały wyższe stężenia tej adipocytokiny u pacjentów z cukrzycą typu 1 tylko w okresie przedpokwitaniowym w porównaniu z grupą kontrolną [178]. Natomiast większość autorów opublikowanych dotychczas prac, oceniających zachowanie się adiponektyny u osób z cukrzycą typu 1, stwierdza podwyższone jej stężenia w surowicy w tej grupie chorych w odróżnieniu od pacjentów z cukrzycą typu 2 [181].

W obecnej pracy stwierdzono istotnie statystycznie wyższy poziom adiponektyny u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 w porównaniu z grupą dzieci zdrowych oraz grupą pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1. Wyniki te są zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych autorów [178, 181, 185]. *Ponadto w obecnym badaniu, w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1, nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy stężeniem adiponektyny a wiekiem pacjenta, jego wiekiem zachorowania na cukrzycę i czasem trwania choroby.* Podobne obserwacje, u dzieci z cukrzycą typu 1, poczynili Geller i wsp. oraz Peczyńska i wsp. [181, 201]. Natomiast w innych badaniach, u pacjentów dorosłych z ponad trzydziestoletnim czasem trwania cukrzycy, wykazano silny związek między poziomem adiponektyny a czasem trwania choroby i wiekiem, niezależnie od wyrównania metabolicznego cukrzycy [202, 203]. *Interesujący jest, wykazany w obecnej pracy, fakt dodatniej korelacji pomiędzy stężeniem adiponektyny a poziomem trójglicerydów.* Podobne wyniki u pacjentów dorosłych z cukrzycą typu 1 uzyskano w badaniu Saraheimo i wsp. [221]. Natomiast trend takiej zależności wykazano także w pracy Galler, jednak nie uzyskano istotności statystycznej. Przeciwnie do Geller *w prezentowanej pracy nie wykazano zależności pomiędzy stężeniem adiponektyny a poziomem cholesterolu HDL [181].* Dowiedziono, że adiponektyna hamuje przyleganie monocytów do komórek śródbłónka przez zmniejszenie ekspresji białek adhezyjnych oraz hamuje transformację makrofagów w komórki piankowate, zmniejsza proliferację komórek mięśni gładkich i zwiększa syntezę tlenu azotu oraz stymuluje angiogenezę [147, 181]. Może ona także zwiększać produkcję HDL-cholesterolu [210]. Wszystkie te działania adiponektyny przemawiają za jej przeciwmiażdżycową funkcją. *W obecnej pracy stwierdzono również istotna dodatnia korelację pomiędzy*

poziomem adiponektyny a stopniem wyrównania metabolicznego u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1. Podobne wyniki uzyskano w pracy Barnes i wsp., w której wykazano związek pomiędzy poziomem HbA_{1c} a poziomem adiponektyny u pacjentów z cukrzycą typu 1 [225]. Negatywny związek adiponektyny z hiperinsulinizmem/insulinoopornością został udokumentowany, więc być może u pacjentów z niedoborem endogennej insuliny ma miejsce sytuacja odwrotna, skutkująca wzrostem stężenia tej adipocytokiny [226]. Jednak przeciwko tej hipotezie przemawia *istotna dodatnia korelacja pomiędzy poziomem adiponektyny a dobowym zapotrzebowaniem na insulinę stwierdzona w prowadzonym badaniu u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1.*

Jak również wykazana w obecnej pracy znamienna dodatnia korelacja pomiędzy poziomem adiponektyny a stężeniem białka C-reaktywnego, przemawia jednak za faktem ścisłego związku wyższego poziomu adiponektyny u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 z toczącym się stanem zapalnym u tych chorych. Ostatnio coraz więcej publikowanych jest doniesień na temat zachowania się adiponektyny u pacjentów z objawami późnych powikłaniami w przebiegu cukrzycy typu 1. W pracy Leth i wsp. oraz w badaniach El-Maksoud i wsp. oceniano gradację stężenia adiponektyny u pacjentów z cukrzycą typu 1 w zależności od stopnia zaawansowania nefropatii cukrzycowej [182, 203]. W badaniach tych poziom adiponektyny wzrastał wraz z progresją zmian stwierdzanych w nerkach. Natomiast nie znaleziono korelacji pomiędzy poziomem adiponektyny a rozwojem retinopatii cukrzycowej [203]. *W prezentowanej pracy potwierdzono istotną statystycznie dodatnią korelację między poziomem adiponektyny a dobowym wydalaniem albuminy w moczu u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1.* Podobne wyniki uzyskał Leth i wsp. oraz Frystyk i wsp., stwierdzając silną dodatnią korelację między poziomem adiponektyny a albuminurią u dorosłych pacjentów z cukrzycą typu 1 [203, 227]. Z kolei Schalwijk i wsp. stwierdzili podwyższone stężenia adiponektyny u dorosłych z cukrzycą typu 1 ze współistniejącą albuminurią, retinopatią cukrzycową i chorobami układu krążenia oraz wykazali dodatnie istotne korelacje pomiędzy poziomem tej adipocytokiny a poziomem cholesterolu, jego frakcji-HDL oraz poziomem TNF- α [202]. Odwrotne wyniki uzyskała Peczyńska i wsp.

stwierdzając ujemną korelację adiponektyny z wielkością albuminurii u dzieci z cukrzycą typu 1 [201].

Mechanizm udziału adiponektyny w rozwoju mikroangiopatii cukrzycowej wciąż jest przedmiotem badań. Rovin i wsp. zastanawiają się, czy adiponektyna obok działania przeciwzapalnego może mieć w określonych sytuacjach także działanie prozapalne. Autorzy wykazali w swoich badaniach *in vitro*, zwiększoną produkcję czynników zapalnych (IL-8 i MCP-1) przez komórki śródbłonna i monocyty krwi obwodowej w odpowiedzi na zastosowanie adiponektyny [150]. W badaniach eksperymentalnych stwierdzono, iż adiponektyna zwiększa aktywność czynnika NFκB, który jest także czynnikiem transkrypcyjnym dla IL-8 i MCP-1 [150, 204]. Bardzo prawdopodobne, iż prozapalne działanie adiponektyny odbywa się przez nowy, dotychczas niepoznany, jej receptor [150]. Inne badanie wykazały, iż pod wpływem adiponektyny zwiększa się również uwalnianie IL-1β, TNF-α i IL-6 w łożysku i tkance tłuszczowej, co także przemawia za jej działaniem prozapalnym w określonych sytuacjach [205]. To, że adiponektyna może aktywować produkcję cytokin prozapalnych nie jest dla nas zaskakujące, ponieważ wiele genów dla tych białek regulowane jest przez, aktywowany przez adiponektynę, czynnik transkrypcyjny NFκB. Z drugiej strony w eksperymentalnych badaniach Ohashi i wsp. stwierdzili, iż adiponektyna działa jako regulator polaryzacji makrofagów w kierunku fenotypu antyzapalnego M2. Z badań tych wynika, że przez te działania wyższe stężenie adiponektyny może hamować rozwój chorób układu naczyniowego [207]. Ze względu, na przeważające działania antyzapalne adiponektyny, nie można wykluczyć również kontrregulacyjnego i ochronnego efektu adiponektyny u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1.

Obecnie nie ma całkowitej zgodności, czy stwierdzane u dzieci i dorosłych z DM 1 wyższe stężenia adiponektyny są tylko zjawiskiem patogenetycznie związanym z rozwojem powikłań, czy może raczej jest to mechanizm kontrregulacyjny, który ma chronić przed rozwojem powikłań naczyniowych w tej grupie chorych. Konieczne są dalsze badania dla wyjaśnienia roli adiponektyny w cukrzycy typu 1.

Podsumowując, wydaje się, że adiponektyna może być cytokiną o dualistycznym charakterze i potencjalnym działaniu prozapalnym

i przeciwzapalnym.

Dominujące immunomodulujące działanie adiponektyny *in vivo* nie zostało dotychczas ustalone. *In vitro* efekt działania indukcyjnego adiponektyny na cytokiny prozapalne był oceniany głównie na komórkach niestymulowanych [205], natomiast jej wpływ na indukcję cytokin przeciwzapalnych, hamowanie NFκB i osłabienie przyczepności i fagocytozy oceniano głównie w komórkach stymulowanych [206]. Ouchi stwierdził na podstawie badań *in vitro*, że najprawdopodobniej tylko przy wyższych stężeniach adiponektyna wykazuje hamujący efekt na toczący się stan zapalny, głównie przez modulację działania NFκB i TNFα, które odgrywają istotną rolę w rozwoju i progresji powikłań cukrzycowych [207]. Przenosząc tę sytuację *in vivo* być może adiponektyna w czasie inicjacji zapalenia przyczynia się do niego, po czym już w środowisku zapalnym wykazuje działanie hamujące ten stan.

Liczne doniesienia mówią o wzroście stężeń wielu markerów zapalenia w cukrzycy typu 1, dlatego też należy brać pod uwagę hipotezę o ochronnym działaniu adiponektyny i jej przeciwdziałaniu czynnikom zapalnym. Konieczne są dalsze badania dla wyjaśnienia roli adiponektyny w cukrzycy typu 1 i w jej powikłaniach.

NOWE MOŻLIWOŚCI TERAPEUTYCZNE

Najważniejszym celem większości prowadzonych badań naukowych w diabetologii jest poszukiwanie wczesnych markerów rozwijającej się cukrzycy typu 1 oraz jej powikłań. Identyfikacja takich wskaźników może przyczynić się do wyjaśnienia ich patogenezy. Konieczne jest poszukiwanie nowszych możliwości terapeutycznych, które spowodują poprawę komfortu życia pacjentów z cukrzycą typu 1.

Wyniki badań w prezentowanej pracy oraz doniesienia innych autorów pozwalają spojrzeć szerzej na patogenezę nefropatii i retinopatii cukrzycowej. Założenie, że jest ona konsekwencją toczącego się przewlekłego procesu zapalnego daje nam nowe możliwości terapeutyczne. Fakt, udokumentowany w niniejszej pracy i nielicznych pracach innych autorów, iż leptyna i adiponektyna mogą być spośród badanych parametrów istotnymi wskaźnikami uszkodzenia funkcji nerek

i narządu wzroku jeszcze przed pojawieniem się mikroalbuminurii i zmian w oku, być może pokaże kierunek nowego pomysłu terapeutycznego opóźniającego wystąpienie powikłań w przebiegu cukrzycy typu 1.

Wydaje się, że odkrycie **leptyny** i dokładne poznanie jej działania może wskazać obiecujące interwencje terapeutyczne dla osób z chorobami o podłożu autoimmunologicznym. Istnieją dowody na to, że ograniczenie sygnalizacji leptyny może zmniejszyć immunologiczną odpowiedź humoralną i komórkową oraz na modelach eksperymentalnych zmniejszyć zapalenie [214]. Jedną z prawdopodobnie potencjalnych strategii, która może okazać się opłacalna jest przeciwdziałanie niepożądanym efektom działań leptyny w schorzeniach autoimmunologicznych. Należałoby poważnie zastanowić się jaki będzie efekt terapii antyleptynowej w ramieniu odporności wrodzonej i nabytej? Czy znajdzie się miejsce dla przeciwciał przeciw leptynie w leczeniu chorób o podłożu autoimmunologicznym? Konieczne są dalsze badania interwencyjne, aby jasno zostało zdefiniowane miejsce dla rekombinowanej leptyny (rmetHuLeptin) w postępowaniu leczniczym chorób autoimmunologicznych [215]. Dla próby modulowania działań leptyny można także użyć rozpuszczalnego receptora leptyny, który poprzez swoje wysokie powinowactwo do leptyny pozwoli kontrolować jej biologiczną dostępność. Inną możliwością jest próba zantagonizowania działania leptyny przez zastosowanie humanizowanego monoklonalnego przeciwciała, które mogłoby zablokować receptor leptyny bez jego aktywacji [208]. W pracy Wang i wsp. podjęto próbę podawania leptyny myszom z eksperymentalnym modelem cukrzycy typu 1 i w mechanizmie hamowania wydzielania glukagonu uzyskano u nich poprawę wyrównania glikemii [209].

Po ustaleniu dokładnej roli i mechanizmu działania **adiponektyny** w cukrzycy typu 1 należy także zastanowić się nad możliwościami terapeutycznymi z zastosowaniem adiponektyny u pacjentów chorych na cukrzycę. Wykazano, iż podanie rekombinowanej **adiponektyny** myszom lipoatroficznym, karmionym dietą bogato tłuszczową, prowadzi u nich do obniżenia masy ciała, redukcji stężenia wolnych kwasów tłuszczowych oraz poprawy insulinowrażliwości [200]. Z kolei Okamoto i wsp. i Yamamoto i wsp. wskazują na korzystny wpływ

adiponektyny na profil lipidowy poprzez zwiększenie produkcji HDL-cholesterolu [210, 211]. Stwierdzono, iż adiponektyna wykazuje efekty zwiększające wrażliwość na insulinę w komórkach obwodowych za pośrednictwem aktywacji AMPK [141]. Adiponektyna hamuje ekspresję molekuł adhezyjnych w komórkach śródbłónka naczyń i produkcję cytokin w makrofagach, przez co hamuje proces zapalny, który pojawia się we wczesnej fazie miażdżycy i mikroangiopatii [147]. Z ostatnich doniesień wynika, iż wzrost stężenia adiponektyny uważany jest za odpowiedź na uszkodzenie śródbłónka naczyń i wykazuje istotny związek z markerami dysfunkcji śródbłónka naczyń (VCAM-1 oraz TNF- α) [202]. Wydaje się, iż adiponektyna mogłaby posłużyć do poprawy insulinowrażliwości i profilu lipidowego u pacjentów z cukrzycą typu 1. Jednak nie wiadomo tak do końca czy można wykorzystać jej możliwości modulacyjne w układzie odpornościowym w profilaktyce rozwoju cukrzycy typu 1 i jej późnych powikłań.

Konieczne są dalsze badania nad rolą w patogenezie cukrzycy typu 1 i jej powikłań.

PODSUMOWANIE

Początkowy okres trwania choroby jest odpowiednim momentem, aby podjąć właściwe postępowanie terapeutyczne, nim rozwiną się nieodwracalne uszkodzenia i zmiany strukturalne w obrębie oka, jak i w nerkach. Dlatego też poszukiwanie i ciągłe próby identyfikacji nowych czynników, które mogą brać udział w patogenezie cukrzycy typu 1 i w rozwoju mikroangiopatii cukrzycowej, w pierwszych latach trwania choroby, być może przyczyni się do wprowadzenia odpowiedniej terapii, która będzie w stanie opóźnić rozwój przewlekłych powikłań naczyniowych lub nawet nie dopuścić do ich powstania.

Przeprowadzone badanie miało charakter wstępny, konieczna jest jednak długoterminowa obserwacja zachowania się adipocytokin u pacjentów z cukrzycą typu 1 w celu dokładnego ustalenia ich roli w tej chorobie. Należy wziąć także pod uwagę możliwość wpływu ekspresji genów na stężenia badanych adipocytokin. Z szeregu prowadzonych badań wynika, iż gen dla leptyny i jej receptora są polimorficzne i mogą występować w różnych wariantach [209].

Wykazano także, iż polimorfizm genu adiponektyny i jego promotora może być związany ze skłonnością do nefropatii cukrzycowej [212]. Dlatego też, oprócz badań oceniających stężenia adipocytokin, konieczne są także duże badania oceniające rozkład różnych genotypów w populacji osób z cukrzycą typu 1 i ocena ich wpływu na stężenie leptyny i adiponektyny oraz przebieg choroby.

Znalezienie unikalnych markerów predyspozycji do rozwoju cukrzycy typu 1 i jej powikłań byłoby milowym krokiem w postępie medycyny, który pozwoliłby na przewidywanie wystąpienia późnych powikłań cukrzycy oraz celowane ich leczenie.

VI. WNIOSKI

1. Niski poziom leptyny i podwyższony poziom adiponektyny był typowy dla pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1.
2. Stopniowo wzrastający poziom leptyny u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 pozostający w dodatniej korelacji z poziomem białka C-reaktywnego sugeruje narastającą reakcję zapalną w organizmie tych chorych i może to predysponować ich do rozwoju mikroangiopatii cukrzycowej.
3. Monitorowanie poziomu adiponektyny w trakcie leczenia cukrzycy typu 1 wykazuje tendencje wzrostowe tej adipocytokiny i pozostaje we współzależności z wyrównaniem metabolicznym cukrzycy oraz rozwojem późnych powikłań naczyniowych tego schorzenia.
4. Wstępnie przeprowadzone badania aczkolwiek sugerują związek poziomów adipocytokin z ryzykiem rozwoju późnych powikłań cukrzycy typu 1, jednak nie pozwalają na ustalenie dokładnego mechanizmu ich działania, co jest zachętą do podjęcia dalszych badań.

VII. STRESZCZENIE

Wstęp

Cukrzyca typu 1 jest obecnie jedną z najczęściej występujących chorób przewlekłych w dziecięcej populacji. W ciągu ostatnich lat nastąpił w Polsce bardzo dynamiczny wzrost zachorowań na tą chorobę. Dokładne poznanie patogenezы rozwoju cukrzycы typu 1 i jej przewlekłych powikłań naczyniowych jest obecnie największym wyzwaniem diabetologii. Identyfikacja czynników, biorących udział w uszkodzeniu nerek i oka w początkowych latach choroby, być może pozwoli na ich eliminację i w efekcie spowoduje opóźnienie pojawienia się późnych powikłań u pacjentów z cukrzycą typu 1. W prowadzonych badaniach, nad patogenezą mikroangiopatii cukrzycowej, coraz więcej uwagi poświęca się komórkom układu immunologicznego i procesowi zapalnemu.

W ciągu ostatnich lat coraz więcej mówi się o roli adipocytokin, w tym leptyny i adiponektyny w patogenezie cukrzycы typu 1 oraz wpływie na jej przebieg i rozwój powikłań cukrzycowych. Leptyna może powodować polaryzację i pobudzenie proliferacji komórek T efektorowych w kierunku Th1, czego rezultatem jest zwiększenie produkcji cytokin prozapalnych. Natomiast większość badań przedstawia adiponektynę jako cytokinę o działaniu przeciwzapalnym. Rola tych adipocytokin w rozwoju cukrzycы typu 1 i jej powikłań nie jest do końca poznana.

Cel pracy

Celem pracy była ocena stężenia leptyny i adiponektyny oraz poszukiwanie związku pomiędzy tymi adipocytokinami a wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi u dzieci z cukrzycą typu 1.

Materiał i metody

Badaniami objęte zostały dzieci hospitalizowane na Oddziale Diabetologii Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii oraz będące pod opieką Przyklinicznej Poradni Cukrzycowej dla Dzieci i Młodzieży Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2007-2010. Do badania włączono 75 pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, w wieku $9,65 \pm 4,05$ lat, oraz 115 pacjentów

z cukrzycą typu 1, trwającą $6,05 \pm 3,25$ lat, w wieku $14,37 \pm 3,13$ lat. Wyniki uzyskane u pacjentów z cukrzycą typu 1 odniesione zostały do dzieci zdrowych w porównywalnym wieku do dzieci chorych na cukrzycę typu 1. U wszystkich badanych dzieci oznaczono poziom HbA_{1c}, białka C-reaktywnego, albuminurii oraz stężenie leptyny i adipocytkiny metodą immunoenzymatyczną (ELISA), a także wielkość ciśnienia tętniczego krwi. Dodatkowo u dzieci z cukrzycą typu 1 wykonano badanie okulistyczne.

Wyniki

Grupa dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 charakteryzowała się znamienne niższym stężeniem leptyny i istotnie wyższym stężeniem adiponektyny w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast nie stwierdzono różnic w zakresie poziomu badanych adipocytokin uwzględniając stopień zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej.

Analiza statystyczna wykazała, iż dzieci z przewlekłe trwającą cukrzycą typu 1 charakteryzowały się statystycznie znamienym wyższym poziomem białka C-reaktywnego, kreatyniny w surowicy krwi, albuminurii oraz istotnie wyższą wartością ciśnienia skurczowego i rozkurczowego krwi w porównaniu do grupy dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, jak i dzieci zdrowych.

Stwierdzono znamienne statystycznie różnice zarówno w poziomie leptyny, jak i adiponektyny, pomiędzy pacjentami z nowo rozpoznaną i długotrwałą cukrzycą typu 1 oraz z grupą dzieci zdrowych. Najwyższym poziomem leptyny charakteryzowała się grupa dzieci zdrowych, zaś najniższy poziom stwierdzono w grupie dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1. Natomiast najwyższy poziom adiponektyny wykazano w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 i był on istotnie wyższy niż stwierdzony w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 i w grupie kontrolnej.

W grupie pacjentów z objawami późnych powikłań cukrzycowych o charakterze mikroangiopatii cukrzycowej stwierdzono znamienne statystycznie wyższy poziom leptyny i adiponektyny w porównaniu z grupą pacjentów z cukrzycą typu 1, u których nie stwierdzono objawów nefropatii i retinopatii cukrzycowej.

Ponadto u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 stwierdzono istotne dodatnie korelacje pomiędzy poziomem adiponektyny a poziomem HbA_{1c}, białka C-reaktywnego oraz dobowym wydalaniem albuminy w moczu.

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski:

1. Niski poziom leptyny i podwyższony poziom adiponektyny był typowy dla pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1.
2. Stopniowo wzrastający poziom leptyny u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 pozostający w dodatniej korelacji z poziomem białka C-reaktywnego sugeruje narastającą reakcję zapalną w organizmie tych chorych i może to predysponować ich do rozwoju mikroangiopatii cukrzycowej.
3. Monitorowanie poziomu adiponektyny w trakcie leczenia cukrzycy typu 1 wykazuje tendencje wzrostowe tej adipocytokiny i pozostaje we współzależności z wyrównaniem metabolicznym cukrzycy oraz rozwojem późnych powikłań naczyniowych tego schorzenia.
4. Wstępnie przeprowadzone badania aczkolwiek sugerują związek poziomów adipocytokin z ryzykiem rozwoju późnych powikłań cukrzycy typu 1 jednak nie pozwalają na ustalenie dokładnego mechanizmu ich działania, co jest zachętą do podjęcia dalszych badań.

VIII. ABSTRACT

Introduction

Type 1 diabetes mellitus is presently one of the most common chronic disease in the pediatric population. In recent years there has been seen a dynamic increase in the incidence of disease in Poland. Precise knowledge of the pathogenesis of type 1 diabetes mellitus and its chronic vascular complications is the enormous challenge of the modern diabetology. Identification of factors involved in diabetic changes in the eye and kidney in the initial years of disease, could lead to their elimination, and ultimately delay the occurrence of late vascular complications in patients with type 1 diabetes.

In previously conducted studies on the pathogenesis of diabetic microangiopathy, more attention is paid to the immune system cells and inflammatory process. In recent years, more papers are focused on the role of adipocytokines, including leptin and adiponectin, in the pathogenesis of type 1 diabetes and the impact on its course and the development of diabetic complications. It is known that leptin may cause polarization and stimulation of proliferation of effector T cells towards Th1, resulting in increased production of proinflammatory cytokines. However, several experimental studies showed adiponectin as an anti-inflammatory and anti-atherosclerotic cytokine.

The role of studied adipocytokines in the development of type 1 diabetes mellitus and its late complications is largely unknown.

Aim of the study

The aim of this study was to determine serum leptin and adiponectin levels and to investigate correlations between them and selected clinical and biochemical parameters in children with type 1 diabetes mellitus in comparison to control group.

Materials and methods

The study included patients hospitalized in the Department of Diabetology, Department of Pediatrics, Hematology, Oncology and Endocrinology, and from the Diabetic Outpatient Clinic for Diabetic Children and Adolescents, Medical University of Gdansk in the years 2007-2010. The study included 75 patients with newly

diagnosed type 1 diabetes at the age 9.65 ± 4.05 years, and 115 patients with type 1 diabetes, lasting 6.05 ± 3.25 years, aged 14.37 ± 3.13 years. In all group of children the level of HbA1c, C-reactive protein, lipid profile, albuminuria and serum adipocytokines, leptin and adiponectin, with enzyme immunoassay (ELISA) were performed. In addition, in children with type 1 diabetes eye examination was done.

Results

Children with newly diagnosis type 1 diabetes mellitus showed a significantly lower leptin and significantly higher adiponectin levels compared with the control group. However, there were no differences in the level of adipocytokines having examined the degree of disturbance of acid-base balance.

Statistical analysis showed that children with ongoing chronic diabetes type 1 characterized by a statistically significant higher level of C-reactive protein, serum creatinine, albuminuria and significantly higher value of systolic and diastolic blood pressure compared to a group of children with newly diagnosed type 1 diabetes and healthy children.

Statistically significant differences in both levels of leptin, and adiponectin, among patients with newly diagnosed and long-term type 1 diabetes and a group of healthy children were shown. The highest level of leptin was characterized by a group of healthy children, while the lowest levels were found in children with newly diagnosed type 1 diabetes. However, the highest level of adiponectin has been demonstrated in patients with long-standing type 1 diabetes and was significantly higher than those found in patients with newly diagnosed type 1 diabetes and the control group.

In patients with symptoms of late diabetic complications were significantly higher levels of leptin and adiponectin compared with patients with type 1 diabetes who have no signs of diabetic nephropathy and retinopathy. In addition, patients with long-term type 1 diabetes showed significant positive correlations between adiponectin levels and HbA1c levels, C-reactive protein and daily excretion of albumin in urine.

Conclusions

1. Low levels of serum leptin and increased levels of serum adiponectin were typical for patients with newly diagnosed type 1 diabetes mellitus.
2. Gradually increasing serum leptin levels in patients with long-standing type 1 diabetes in positive correlation with the level of C-reactive protein suggests a growing body inflammatory reaction in these patients and may predispose them to the development of diabetic microangiopathy.
3. Monitoring the level of adiponectin in the treatment of type 1 diabetes showed increasing serum levels of this adipocytokine and it is in correlation with metabolic control of diabetes and the development of late complications of the disease.
4. Initially, studies suggest that although levels of adipocytokines and relationship with risk of developing late complications of type 1 diabetes, however, did not establish the exact mechanism of their action, which is an incentive for further research.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę. 2010. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. Diab. Prakt. 2010; 11,supl. A.
2. Standards of Medical Care in Diabetes 2010. ADA. Diabetes Care. 2010; 33 , supl. 1: 11-61.
3. Atlas IDF 2010, www.diabetesatlas.org
4. Maahs DM, West NA, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ. Epidemiology of type 1 diabetes. Endocrinol Metab North Am. 2010; 39: 481-97.
5. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, Green A, Soltész G. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. Lancet. 2009; 373 (9680): 2027-2033.
6. The Diamond Project Group: Incidence and trends of childhood T1DM worldwide 1990-99. Diabet Med. 2006; 23: 857-866.
7. Jarosz-Chobot P, Krętowski A, Peczyńska J, Bandurska-Stankiewicz E, Urban M, Rewers M. The parallel increase of type 1 diabetes in two different region of Poland: highly industrialized Upper Silesia and agricultural north-eastern region of Podlasie and Warmia-Mazury (1989-2003). Przegl Lekarski. 2006; 63 (supl. 4): 31.
8. Jarosz-Chobot P, Deja G, Polanska J. Epidemiology of type 1 diabetes among Silesian children aged 0-14 years, 1989-2005. Acta Diabetol. 2010; 47: 29-33.
9. Myśliwiec M, Balcerska A, Zorena K, Jędrzejczyk A, Malinowska E, Myśliwska J. Increasing Incidence of Diabetes Mellitus Type 1 in Children- the Role of Environmental Factors. Polish J Environm Studies. 2007; 16, 1: 109-112.

10. Wahlberg J, Fredriksson J, Nikolic E, Vaarala O, Ludvigsson J. The ABIS-Study Group. Environmental factors related to the induction of beta-cell autoantibodies in 1-yr-old healthy children. *Pediatric Diabetes*. 2005; 6: 199-205.
11. Atkinson M, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet*. 2001; 358: 221-229.
12. Nerup J, Mandrup-Poulsen T, Helqvist S. On the pathogenesis of IDDM. *Diabetologia*. 1994; 37: 82-89.
13. Freisleben De Blasio B, Bak P, Pociot F, Karlsen AE, Nerup J. Onset of type 1 diabetes. A dynamical instability. *Diabetes*. 1999; 48: 1677-1685.
14. Dozio N, Belloni C, Girardi A. Heterogeneous IgG subclass distribution of islet cell antibodies. *J Autoimmun*. 1994; 7: 45-53.
15. Krętowski A, Kinalska I. Geny DQA1 I DQB1 jako markery cukrzycy insulinozależnej w populacji polskiej. *Pol Arch Med Wewn* 1999; CI: 205.
16. Hermann R, Bartsocas CS, Soltesz G. Genetic screening for individuals at high risk for type 1 diabetes in the general population using HLA Class II alleles as disease markers. A comparison between three European populations with variable rates of disease incidence. *Diabetes Metab Res*. 2004; 20: 322-329.
17. Greenbaum CJ, Eisenbarth G, Atkinson M. DPT-1 Study Group. High frequency of abnormal glucose tolerance in DQA1* 0102/DQB1* 0602 relative identified part of the DPT-1. *Diabetologia*. 2005; 48: 68-74.
18. Gillespie KM, Bain SC, Barnett AH. The rising incidence of childhood type 1 diabetes and reduced contribution of high-risk HLA haplotypes. *Lancet*. 2004; 364: 1699-1700.
19. Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Schroeder HW Jr, Frew AJ, Weyand CM. *Clinical Immunology. Principles and Practice*. III wyd. Elsevier: 1035.

20. Kordonouri O, Hartmann R, Charpentier N, Knip M, Danne T, Ilonen J. Genetic risk markers related to diabetes-associated autoantibodies in young patients with type 1 diabetes in Berlin, Germany. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2010; 118 (4): 245-249.
21. Walter M, Albert E, Conrad M. IDDM2/insulin VNTR modifies risk conferred by IDDM1/HLA for development of Type 1 diabetes and associated autoimmunity. *Diabetologia*. 2003; 46: 712-720.
22. Kavvoura FK, Ioannidis JP. CTLA-4 Gene Polymorphisms and Susceptibility to Type 1 Diabetes Mellitus: A HuGE Review and Meta Analysis. *Am J Epidemiol*. 2005; 162: 3-16.
23. Hulme JS, Barratt BJ, Twells RC. Association analysis of the lymphocyte-specific protein tyrosine kinase (LCK) gene in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2004; 53: 2479-2482.
24. Pociot F, McDermott MF. Genetics of type 1 diabetes mellitus. *Genes Immun*. 2002; 3 (5): 235-249.
25. Knip M, Akerblom HK. Environmental factors in the pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Exp Clin End Diab*. 1999; 107: 93-100.
26. Viskari H, Ludvigsson J, Uibo R et al. Relationship between the incidence of type 1 diabetes and maternal enterovirus antibodies: time trends and geographical variation. *Diabetologia*. 2005; 48: 1280-1287.
27. Frisk G, Tuvemo T. Enterovirus infection with beta-cell tropic strains are frequently in siblings of children diagnosed with type 1 diabetes and in association with elevated levels of GAD65 antibodies. *J Med Virol*. 2004; 73: 450-459.
28. Honeyman MC, Coulson BS, Stone NL. Association between rotavirus infection and pancreatic islet autoimmunity in children at risk of developing type 1 diabetes. *Diabetes*. 2000; 49: 1319-1324.
29. Couper JJ, Steele C, Beresford S et al. Lack of association between duration of breast-feeding or introduction of cow's milk and development of islet autoimmunity. *Diabetes*. 1999; 48: 2145-2149.

-
30. Ziegler AG, Schmid S, Huber D, Hummel M, Bonifacio E. Early infant feeding and risk of developing type 1 diabetes-associated auto-antibodies. *JAMA* 2003; 290: 1721-1728.
 31. Virtanen SM, Knip M. Nutritional risk predictors of beta cell autoimmunity and type 1 diabetes at a young age. *Am J Clin Nutr.* 2003;78(6): 1053-1067.
 32. Bellisle F, Dalix AM, Chappuis AS, Rossi F, Fiquet P, Gaudin V, Assoun M, Slama G. Monosodium glutamate affects mealtime food selection in diabetic patients. *Appetite.* 1996; 26(3): 267-275.
 33. Svensson J, Carstensen B, Mortensen HB, Borch-Johnsen K; Danish Study Group of Childhood Diabetes. Early childhood risk factors associated with type 1 diabetes-is gender important? *Eur J Epidemiol.* 2005; 20 (5): 429-34.
 34. Ercolini AM, Miller SD. The role of infections in autoimmune disease. *Clin Exp Immunol.* 2009; 155 (1): 1-15.
 35. Van der Werf N, Kroese FG, Rozing J, Hillebrands JL. Viral infections as potential triggers of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2007; 23 (3):169-83.
 36. Honeyman MC, Stone NL, Falk BA, Nepom G, Harrison LC. Evidence for molecular mimicry between human T cell epitopes in rotavirus and pancreatic islet autoantigens. *J Immunol.* 2010; 184 (4): 2204-2210.
 37. Mathieu C, Badenhoop K. Vitamin D and type 1 diabetes mellitus: state of the art. *TEM* 2005; 267.
 38. Szewczyk L, Piekarski R, Azab Y, Wysocka-Łukasik B. Poziom witaminy D3 w relacji do stopnia autoimmunizacji i dysfunkcji komórek beta w świeżo rozpoznanej cukrzycy typu 1. *Endokrynol Pediatr.* 2008; 4: 17-21.
 39. Myśliwiec M, Brandt A, Bautembach-Minkowska J, Balcerska A, Szewczyk L. Ocena poziomu witaminy D3 u dzieci zdrowych i z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1. *Endokrynol Pediatr.* 2008; 4: 23-30.

40. Halteren AG, Tysma OM, van Etten E, Mathieu C, Roep BO. 1-alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 or analogue treated dendritic cells modulate human autoreactive T cells via the selective induction of apoptosis. *J Autoimm.* 2004; 23: 233-239.
41. Yoon JW, Jun HS, Santamaria P. Cellular and molecular mechanisms for the initiation and progression of beta cell destruction resulting from collaboration between macrophages and T cells. *Autoimmunity.* 1998; 27: 109-122.
42. Krętowski A. Rola komórkowego układu immunologicznego w patogenezie cukrzycy insulinozależnej. *Diabetol Polska.* 1995; 2: 237-243.
43. Roep BO, Hiemstra HS, Schloot NC. Molecular mimicry in type 1 diabetes: immune cross-reactivity between islet autoantigen and human cytomegalovirus but not Coxackie virus. *Ann N Y Acad Sci.* 2002; 958: 163-165.
44. Wilkin TJ. The accelerator hypothesis: weight gains as the missing link between type I and II diabetes. *Diabetologia.* 2001; 44: 914-921.
45. Mosman TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today.* 1996; 17: 138-146.
46. Rabinovitch A, Suarez-Pinzon W. Cytokines and their roles in pancreatic islet β -cell destruction and insulin-dependent diabetes mellitus. *Biochem Pharmacol.* 1998; 55: 1139-1149.
47. Szelachowska M, Krętowski A, Kinalska I. Decreased in vitro IL-4 and IL-10 production by peripheral blood in first degree relatives at high risk of diabetes type 1. *Horm Metab Res* 1998; 30: 526-530.
48. Brusko TM, Wasserfall CH, Clare-Salzer MJ, Schatz DA, Atkinson MA. Functional defects and the influence of age on the frequency of CD4⁺ CD25⁺ T-cells in type 1 diabetes. *Diabetes.* 2005; 54: 1407-1414.
49. Lindley S, Dayan CM, Bishop A, Roep BO, Peakman M, Tree TI. Defective suppressor function in CD4⁺CD25⁺ T-cells from patients with type 1 diabetes. *Diabetes.* 2005; 54: 92-99.

50. Łuczyński W, Stasiak-Barmuta A, Urban R, Urban M, Florys B, Hryszko M. Lower percentages of T regulatory cells in children with type 1 diabetes - preliminary report. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab.* 2009; 15 (1): 34-38.
51. Charfen MA, Fernandez M. Diabetic ketoacidosis. *Emerg Med Clin North Am.* 2005; 23: 609-628.
52. American Diabetes Association: Hyperglycemic crises in diabetes. *Diabetes Care.* 2004; 27: 94-102.
53. Sochett E, Daneman D. Early diabetes -related complications in children and adolescents with type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1999; 28: 865-881.
54. Danne T, Kordonouri O, Endres I, Hovener G. Monitoring for retinopathy in children and adolescents with type 1 diabetes. *Acta Paediatr.* 1998; 425: 35-41.
55. DCCT Research Group . The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Eng J Med.* 1993; 329:977-986.
56. Zhang L, Krzentowski G, Albert A, Lefebvre PJ. Risk of developing retinopathy in diabetes control and complications trial type 1 diabetic patients with good or poor metabolic control. *Diabetes Care.* 2001; 23: 1275-1279.
57. Mimura T, Funatsu H, Uchigata Y, Kitano S, Noma H, Shimizu E, Konno Y, Amano S, Araie M, Yoshino O, Iwamoto Y, Hori S. Relationship between human leukocyte antigen status and proliferative diabetic retinopathy in patients with younger-onset type 1 diabetes mellitus. *Am J Ophthalmol.* 2003; 135 (6): 844-848.
58. Khazaei MH, Tavakol Afshari J, Khazaei B, Daneshvar R, Akbarzadeh J, Khazaei L, Ganjali R, Raygan . HLA-DQB1 subtypes predict diabetic retinopathy in patients with type I diabetes mellitus. *Eur J Ophthalmol.* 2009; 19 (4): 638-645.
59. Kao YL, Donaghue K, Chan A, Knight J, Silnik M. An aldose reductase intragenic polymorphism associated with diabetic retinopathy, *Diabetes Res Clin Pract.* 1999; 46: 155-160.

-
60. Demaine AG. Polymorphisms of the aldose reductase gene and susceptibility to diabetic microvascular complication. *Curr Med Chem*. 2003; 10: 1389-1398.
 61. Abhary S, Hewitt AW, Burdon KP, Craig JE. A systematic meta-analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy *Diabetes*. 2009; 58 (9): 2137-47.
 62. Taverna MJ, Elgrably F, Selmi H, Selam JL, Slama G. The T-786C and C774T endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms independently affect the onset of severe diabetic retinopathy. *Nitric Oxide*. 2005; 9: 88-92.
 63. Bazzaz JT, Amoli MM, Pravica V, Chandrasegaran R, Boulton AJ, Larijani B, Hutchinson IV. eNOS gene polymorphism association with retinopathy in type 1 diabetes. *Ophthalmic Genet*. 2010; 31 (3): 103-107.
 64. Awata T, Inoue K, Kurihara S. A common polymorphism in the 5' untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 1635-1639.
 65. Ray D, Mishra M, Ralph S, Read I, Davies R, Brenchley P. Association of the VEGF gene with proliferative diabetic retinopathy but not proteinuria in diabetes. *Diabetes* 2004; 53: 861-864.
 66. Chun MY, Hwang HS, Cho HY, Chun HJ, Woo JT, Lee KW, Nam MS, Baik SH, Kim YS, Park Y. Association of vascular endothelial growth factor polymorphisms with nonproliferative and proliferative diabetic retinopathy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95 (7): 3547-51.
 67. Bućan K, Ivanisević M, Zemunik T, Boraska V, Skrabić V, Vataavuk Z, Galetović D, Znaor L. Retinopathy and nephropathy in type 1 diabetic patients association with polymorphisms of vitamin D-receptor, TNF, Neuro-D and IL-1 receptor 1 genes. *Coll Antropol*. 2009; 33: 99-10.
 68. Zhang HM, Chen LL, Wang L, Liao YF, Wu ZH, Ye F, Xu S, Yi LL. Association of 1704G/T and G82S polymorphisms in the receptor for advanced glycation end products gene with diabetic retinopathy in Chinese population. *J Endocrinol Invest*. 2009; 32 (3): 258-262.

-
69. Kański J. Okulistyka kliniczna. Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 1997: 344-351.
 70. Staiger K, Scgatz U, Staiger H, Weyrich P, Hass C, Guirguis A. Protein kinase C mediates lipid-induced apoptosis of human coronary artery endothelial cells. *Microvasc Res.* 2009; 78(1): 40-44.
 71. Fong DS, Aiello LP, Ferris FL, Klein R. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care.* 2004; 10: 2540-2553.
 72. Marek N, Raczyńska K. Anti-advanced glycation end products (AGE) therapy: Chance for the diabetic retinopathy treatment? *Mag Okul.* 2006; 3: 43-51.
 73. Wautier JL, Guillausseau PJ. Advanced glycation end products, their receptors and diabetic angiopathy. *Diabetes Metab.* 2001; 27: 535-542.
 74. Geraldès P, King GL. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res.* 2010; 106 (8): 1319-1331.
 75. Tuttle KR. Linking metabolism and immunology: diabetic nephropathy is an inflammatory disease. *J Am Soc Nephrol.* 2005; (16) 6: 1537-1538.
 76. Galkina E, Ley K. Leukocyte recruitment and vascular injury in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17: 368-377.
 77. Fisman EZ, Tenenbaum A. Cardiovascular diabetology: clinical, metabolic and inflammatory faces. Preface. *Adv Cardiol.* 2008; 45: 1-16.
 78. Gabay C. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Res Ther.* 2008; Supl. 2; 8: 3.
 79. Myśliwiec M, Balcerska A, Zorena K, Myśliwska J, Lipowski P, Raczyńska K. The assessment of the correlation between vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor (TNF-alpha), interleukin 6 (IL-6), glycaemic control (HbA1c) and the development of the diabetic retinopathy in children with diabetes mellitus type 1 *Klin Oczna.* 2007; 109(4-6): 150-154.

-
80. Myśliwiec M, Balcerska A, Zorena K, Myśliwska J, Lipowski P, Raczyńska K. The role of vascular endothelial growth factor, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008; 79: 141-146.
 81. Viberti GC, Walker JD, Pinto J. Diabetic nephropathy. W: *International Textbook of Diabetes Mellitus*. Chichester 1997; 1267-1328.
 82. Hasslacher C. Natural course of diabetic nephropathy W: C. Hasslacher (red.). *Diabetic nephropathy*. John Wiley & Sons, Nowy York, USA 2001; 19-37.
 83. Puka J, Rutkowski B, Lichodziejewska-Niemierko M. Raport o stanie leczenia nerkozastępczego w Polsce – 2001. Gdańsk 2002.
 84. USRD. Annual Data Report 2000. National Institutes of Health, National Institutes of Diabetes and Digestive and Kidney Disease. Bethesda, MD, 2000.
 85. Parving HH, Mauer M, Ritz E. Diabetic nephropathy. W: B.M. Brenner (red.). *Brenner and rectors the kidney*. Philadelphia 2004: 1777-1818.
 86. Drummond K, Mauer M. International Diabetic Nephropathy Study Group: The early natural history of nephropathy in type 1 diabetes: II. Early renal structural changes in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2002; 51: 1580-1587.
 87. Messent JW, Elliot TG, Hill RD, Jarrett RJ, Keen H, Viberti GC. Prognostic significance of microalbuminuria in insulin-dependent diabetes mellitus: A twenty-three year follow-up study. *Kidney Int.* 1992; 41: 836-839.
 88. Giorgio F, Laviola Ł, Cavallo-Perin P. Factors associated with progression to macroalbuminuria in microalbuminuric type 1 diabetic patients: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia*. 2004; 47: 1020-1025.
 89. Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E. The stages in diabetic renal disease with emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983; 28: 6-11.
 90. Evans TC, Capell P. Diabetic nephropathy. *Clin Diabetes*. 2000; 18, 1.

-
91. Rudberg S, Osterby R. Diabetic glomerulopathy in young IDDM patients. *Horm Res.* 1998; 50: 17-22.
 92. Watts GF, Tonb N, Gant V. The immunogenetics of early nephropathy in insulin-dependent diabetes: association between the HLA-2 antigen and albuminuria. *Q J Med.* 1992; 83: 461-471.
 93. Grzeszczak W. Znaczenie czynników genetycznych w patogenezie nefropatii cukrzycowej. [w] *Nefropatia cukrzycowa*. W. Grzeszczak. Via Media, Gdańsk 2003: 47-68.
 94. Zanchi A, Wantman M, Moczulski DK, Warram JH. Genetic susceptibility to diabetic nephropathy in IDDM is related to polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene. *Diabetes.* 1998; 47: 52-57.
 95. McKnight AJ, Savage DA, Patterson CC, Doherty CC, Maxwell AP. Role of transforming growth factor 1 gene polymorphisms in diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2002; 1: 216-220.
 96. Poirier O, Nicaud V, Vionnet N, Raoux S, Tarnov L, Vlassara H. Polymorphism screening of four genes encoding advanced glycation end-product putative receptors. Association study with nephropathy in type 1 diabetic patients. *Diabetes* 2001; 50: 1214-1218.
 97. Fujisawa T, Okegami H, Kawaguchi J, Hamada Y, Uceda H et al. Meta-analysis of association of insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme gene with diabetic nephropathy and retinopathy. *Diabetologia* 1998; 41: 47-53.
 98. Hodgkinson AD, Millward BA, Demaine AG. Polymorphisms of the glucose transporter (GLUT1) gene are associated with diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2001; 59: 985-989.
 99. Wolf G, Ziyadeh FN. Cellular and Molecular Mechanisms of Proteinuria in Diabetic Nephropathy. *Nephrol Physiol.* 2007; 106: 26-31.

100. Myśliwiec M, Balcerska A, Zorena K, Myśliwska J, Nowacka M, Lipowski P, Raczyńska K. Selected immunologic and biochemical risk factors of the retinopathy and nephropathy development in children with diabetes mellitus type 1. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab.* 2006; 12 (4): 269-273.
101. Zorena K, Myśliwska J, Myśliwiec M, Balcerska A, Lipowski P, Raczyńska K. Interleukin-12, vascular endothelial growth factor and tumor necrosis factor- α in The process of neoangiogenesis od diabetic retinopathy in children. *Klin Oczna.* 2007; 109: 155-159.
102. Navarro JF, Milena FJ, Mora C. Tumor necrosis factor - α gene expresion in diabetic nephropathy: relationship with urinary albumin excretion and effect of angiotensin-converting enzyme inhibition. *Kidney Int.* 2005; 98-102.
103. Strippoli G, Craig M, Deeks J. Effects of angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor antagonists on mortality and renal outcomes In diabetic nephropathy: systemic review. *BMJ.* 2004; 329, 828-831.
104. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol. Metab.* 2004; 89: 548-2556.
105. Auwerx J, Steals B. Leptin. *Lancet.* 1998; 351, 737-742.
106. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med.* 1997; 3: 1029-1033.
107. Bado A, Levasseur S, Attoub S. The stomach is a source of leptin. *Nature.* 1998; 394: 790-793.
108. Bluher S, Mantzoros Ch. The role of leptin in regulating neuroendocrine function in human. *J Nutr.* 2004; 134 (9): 2469-2474. Review.
109. Kratzsch J, Deimel A, Galler A. Increased serum soluble leptin receptor in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol.* 2004; 151: 475-481.
110. Farooqi SI, Wangenstein T, Collins S, Kimber W. Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor. *N Engl J Med.* 2007; 356: 237-247.

-
111. Lavens D, Piessevaux J. Review: negative regulation of leptin receptor signaling Eur. Cytokine Netw. 2006; 17 (3): 211-219.
 112. Zarkesh-Esfahani H, Pockley G, Metcalfe RA, Bidlingmaier M, Wu Z, Ajami A. Leptin indirectly activates human neutrophils via induction of TNF-alpha. J Immunol. 2004; 172(3): 1809-1814.
 113. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros CS. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. Nature. 1996; 382: 250-255.
 114. Considine RV. Human leptin: an adipocyte hormone with weight-regulatory and endocrine functions. Semin Vasc Med. 2005 Feb; 5(1): 15-24.
 115. Grinspoon S, Gulick T, Askari H, Landt M, Lee K, Anderson E, Ma Z, Vignati L, Bowsher R, Herzog D, Klibanski A. Serum leptin levels in women with anorexia nervosa. J Clin Endocrinol Metab. 1996; 81: 3861-3863.
 116. Himmerich H, Schönknecht P, Heitmann S, Sheldrick AJ. Laboratory parameters and appetite regulators in patients with anorexia nervosa. J Psychiatr Pract. 2010; 16(2): 82-92. Review.
 117. Wiesner G, Vaz M, Collier G. Leptin is related from the human brain. Influence of adiposity and gender. J Clin Endocrinol Metab. 1999; 84: 2270-2273.
 118. Myers MG, Leibel RL, Seeley RJ, Schwartz MW. Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. Trends Endocrinol Metab. 2010; 21(11): 643-51.
 119. Narkiewicz K, Somers VK, Mos L, Kato M, Accurso V, Palatini P. An independent relationship between plasma leptin and heart rate in untreated patients with essential hypertension. J Hypertens. 1999; 17: 245-249.
 120. Bełtowski J. Role of leptin in blood pressure regulation and arterial hypertension. Journal of Hypertension. 2006; 24: 789-801.
 121. Paz-Filho GJ, Volaco A, Suplicy HL, Radominski RB, Boguszewski CL. Decrease in leptin production by the adipose tissue in obesity associated with severe metabolic syndrome. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2009; 53(9): 1088-95.

122. Kouidhi S, Jarboui S, Clerget Froidevaux MS, Abid H, Demeneix B, Zaouche A, Benammar Elgaaied A, Guissouma H. Relationship between subcutaneous adipose tissue expression of leptin and obesity in tunisian patients. *Tunis Med.* 2010; 88(8): 569-572.
123. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation – induced immunosuppression. *Nature.* 1998; 394: 897-901.
124. Lam Q, Lu L. Role of leptin In immunity. *Cell Mol Immunol.* 2007; 4: 1-13.
125. Gruen ML, Hao M, Piston D, Hasty A. Leptin requires canonical migratory signaling pathways for induction of monocyte and macrophage chemotaxis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007; 293: 1481-1488.
126. Matarese G, Moschos S, Mantzoros Ch. Leptin in immunology. *J. Immunol.* 2005; 173: 3137-3142.
127. Lord G, Matarese G, Howard J, Bloom S, Lechler R. Leptin inhibits the anti-CD3-driven proliferation of peripheral blond T cells but enhances the production of proinflammatory cytokines. *J Leukoc Biol.* 2002; 72: 330-338.
128. Hasenkrug KJ. The Leptin Connection: Regulatory T Cells and Autoimmunity. *Immunity.* 2007; 26: 143-145.
129. Lazarus JH. High leptin levels in women developing postpartum thyroiditis. *Clin Endocrinol.* 2004; 60: 208-213.
130. Zhan M, Zhao H, Yang R, Han ZC. Serum leptin levels in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol.* 2004; 72: 348-352.
131. Garcia-Gonzales A, Gonzalez-Lopez L, Valera-Gonzalez IC, Cardona-Munoz EG, Paramo M, Ortiz M, Abundis E, Nava JI. Serum leptin levels in women with systematic lupus erythematosus. *Int Rheumatol.* 2002; 22: 138.
132. Batocchi AP, Rotondi M, Caggiula M, Frisullo G, Odoardi F, Nociti V. Leptin as a marker of multiple sclerosis activity in patients treated with interferon-beta. *J Neuroimmunol.* 2003;139(1-2): 150-154.

-
133. Matarese G, Sanna V, Lechler RI, Sarvetnick N, Fontana S, Zappacosta S. Leptin accelerates autoimmune diabetes In female NOD mice. *Diabetes*. 2002; 51: 1356-1361.
 134. Kalousova M, Sulkova S, Zima T, Deppisch R, Beck W, Bednarova V, Fortova M, Tesar V. Advanced glycation end products in hemodialyzed patients with diabetes mellitus correlate with leptin and leptin/body fat ratio. *Ren Fail*. 2003; 25(2): 277-286.
 135. Yamagishi A. Pigment epithelium-derived factor inhibits leptin-induced angiogenesis by suppressing VEGF gene expression through anti-oxidative properties. *Microvasc Res*. 2003; 65(3): 186-190.
 136. Yamagishi S, Inagaki Y, Amano S, Okamoto T, Takeuchi M. Up-regulation of vascular endothelial growth factor and down-regulation of pigment epithelium-derived factor messenger ribonucleic acid levels in leptin-exposed cultured retinal pericytes. *Int J Tissue React*. 2002; 24(4): 137-144.
 137. Wolf G, Chen S, Han DC, Ziyadeh FN. Leptin and renal disease. *Am J Kidney Dis*. 2002; 39(1): 1-11.
 138. Karvela A, Rojas Gil AP, Pappa A, Papadaki H. Expression of AdipoR1, PPAR gamma and CB1 in adipocyte primary cultures and serum adiponectin in childhood obesity. *Horm Res*. 2007; 68: 118.
 139. Schraw T, Wang ZV, Halberg N. Plasma adiponectin complex have distinct biochemical characteristics. *Endocrinology*. 2008; 149: 2270-2282.
 140. Savino F. Adiponectin: an intriguing hormone for paediatricians. *Acta Paediatr*. 2008; 97: 701-705.
 141. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and Adiponectin Receptors. *Endocrinol Rev*. 2005; 26: 439-451.
 142. Scherer P. Adipose tissue. From lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes*. 2006; 55: 1537-1545.

-
143. Kozłowska A, Kowalska I. Rola adiponektyny w patogenezie zespołu metabolicznego oraz chorób układu krążenia. *Endokrynol Pol.* 2006; 57: 626-632.
 144. Bacha F, Saad R, Gungor N, Arslanian SA. Adiponectin in youth. Relationship to visceral adiposity, insulin sensitivity and β -cell function. *Diabetes Care.* 2004; 27: 547-52.
 145. Kumada M, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation.* 1999; 100: 2473-2476.
 146. Tan KC, Xu A, Chow WS, Lam MC, Ai VH, Tam SC, Lam KS. Hypoadiponectinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation. *Journal of Clin Endocrinol and Metabolism.* 2004, 100: 2473-2476.
 147. Diez J, Iglesias P. The role of novel adipocyte -derived hormone adiponectin In human disease. *Eur J Endocrinol.* 2003; 148: 288-293.
 148. Kumada M, Kihara S, Noriyuki O, Kobayashi H, Okamoto Y, Ohashi K, Maeda K, Nagarentani H, Kishida H, Maeda N, Nagasawa A, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin specifically increased tissue inhibitor of metalloproteinase-1 through interleukin-10 expression in human macrophages. *Circulation.* 2004; 109: 2046-2049.
 149. Wulster-Radcliffe MC, Ajuwon KM, Wang J, Christian JA, Spurlock ME. Adiponectin differentially regulates cytokines in porcine macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004 (316): 924-929.
 150. Rovin B, Song H. Chemokine induction by adipocyte-derived cytokine adiponectin. 2006, *Clin Immunol.* 2006; 120: 99-105.
 151. Rovin BH, Song H, Hebert LA, Nadasdy T, Nadasdy G, Birmingham DJ, Yu CY, Nagaraja HN. Plasma, urine, and renal expression of adiponectin in human systemic lupus erythematosus. *Kidney Int.* 2005; (68): 1825- 1833.
 152. Matsuzawa Y. Adiponectin: identification, physiology and clinical relevance in metabolic and vascular disease. *Atheroscler.* 2005; 6: 7-14.

-
153. Iwashima Y, Horio T, Kumada M, Suzuki Y, Kihara S, Rakugi H. Adiponectin and renal function, and implication as a risk of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2006; 98: 1603-1608.
 154. Wyszyńska T, Litwin M. Nadciśnienie tętnicze u dzieci i młodzieży. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002; 46.
 155. ETDRS Report No 11. Classification of diabetic retinopathy from fluorescein angiograms ETDRS Rerearch Group. *Ophthalmology*. 1991; 98: 807-822.
 156. Myśliwiec M, Balcerska A, Stępiński J, Bąkowska A, Jędrzejczyk A. Czynniki prognostyczne choroby trzewnej u dzieci z cukrzycą typu 1. *Pediatr Endocrinol Diabet Metab*. 2006; 12, 4: 281-285.
 157. Leiter LA. The prevention of diabetic microvascular complications of diabetes. *Diabetes Res* 2005; 86: 3-14.
 158. Hovind P, Tarnow L, Rossing P, Jensen BR. Predictors of the development of microalbuminuria and macroalbuminuria in patients with type 1 diabetes: inception cohort study. *BMJ* 2004; 328: 1105-1108.
 159. Klein R, Zimman B, Gardiner R et al. The relationship of diabetic retinopathy to preclinical diabetic glomerulopathy lesions In type 1 diabetic patients. Renin-Angiotensin System Study. *Diabetes*. 2005; 54: 527-533.
 160. Stephenson J, Fuller JH, Viberti GC. The EURODIAB IDDM Complications Study Group: blood pressure, retinopathy and urinary albumin excretion in IDDM. *Diabetologia*. 1995; 38: 599-603.
 161. Ganz M, Proetzsch R, Hasslacher C. Screening for and diagnosis of incipient diabetic nephropathy (IDN) in diabetes. W: C. Hasslacher (red.). *Diabetic nephropathy*. John Wiley & Sons, Nowy York, USA 2001; 117-127.
 162. Głąb E, Wąsikowa R, Iwanicka Z. Występowanie nefropatii i retinopatii cukrzycowej u pacjentów do 30 roku życia z cukrzycą typu 1. *Diabetol Polska*. 2000; 7: 156-164.

-
163. Kullberg CE, Abrahamsson M, Arnqvist HJ, Finnstrom K, Ludvigsson J. Prevalence of retinopathy differs with age at onset of diabetes in a population of patients with 1 diabetes. *Diabet Med.* 2002; 19: 924-931.
 164. Donaghue KC, Fairchild JM, Craig ME, Chan AK et al. Do all prepubertal years of diabetes duration contribute equally to diabetes complications. *Diabetes Care.* 2003; 26: 1224-1229.
 165. Svensson M, Eriksson JW, Dahlquist G et al. Early glycemic control age at onset and development of microvascular complications in childhood-onset type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2004; 27: 955-962.
 166. Drummond K, Mauer M. International Diabetic Nephropathy Study Group: The early natural history of nephropathy in type 1 diabetes: II. Early renal structural changes in type 1 diabetes. *Diabetes.* 2002; 51: 1580-1587.
 167. Nowak JZ, Wiktorowska-Owczarek A. Neowaskularyzacja w tkankach oka: mechanizmy i rola czynników pro- i antyzapalnych. *Klin Oczna.* 2004; 106: 90-97.
 168. Kay TWH, Thomas HE, Harrison LC, Allison J. The beta cell in autoimmune diabetes: many mechanisms and pathways of loss. *TEM* 2000; 11: 11-15.
 169. Morales A., Wasserfall C., Brusko T. Adiponectin and leptin concentration may aid in discriminating disease forms in children and adolescents with type 1 and type 2 diabetes melitus. *Diabetes Care.* 2004; 27: 2010-2014.
 170. Kratzsch J, Knerr I, Galler A, Kapellán T, Raile K, Korner A, Thiery, Dotsch J, Kiess W. Metabolic decompensation in children with type 1 diabetes mellitus associated with increased serum levels of soluble leptin receptor. *Eur Jour of Endocrinol.* 2006; 155: 609-614.
 171. Serreze DV, Chapman HD, Post CM, Johnson EA, Suarez-Pinzon WL. Th1 to Th2 cytokine shifts in nonobese mice:sometimes an outcome, rather than the cause, of diabetes resistance elicited by immunostimulation. *J Immunol.* 2001, 166: 1352-1359.

172. Prud'home GJ. Gene therapy of autoimmune diseases with vectors encoding regulatory cytokines or inflammatory cytokine inhibitors. *J Gene Med.* 2000; 2: 222-232.
173. Gonzalez A, Lopez L, Gonzalez IC, Munoz EG, Paramo M, Ortiz M. Serum leptin levels In women with systematic lupus erythematosus. *Rheumatol Int.* 2002; 51: 1356-1361.
174. Evereklioglu C, Inaloz HS, Kirtak N, Doganay S, Bulbul M, Ozerol E. Serum leptin concentration is increased In patients with Behcet's syndrom and is correlated with disease activity. *Br J Dermatol.* 2002; 147: 331-6.
175. Matarese G, Carrieri PB, La Cava A, Perna F, Sanna V, De Rosa V. Leptin increase in multiple sclerosis associated with reduced number of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci. USA* 2005; 102: 5150-5155.
176. Gilliam L, Jensen R, Yang P, Weige D, Greenbaum C, Pihoker C. Evaluation of leptin levels in subjects at risk for type 1 diabetes. *J Autoimmunol.* 2006, 26: 133-137.
177. Lee CH, Chen YG, Chen J. Novel leptin receptor mutation in NOD/LtJ mice suppresses type 1 diabetes progresion: Immunological analysis. *Diabetes.* 2006; 164: 385-390.
178. Celi F, Bini V, Papi F. Circulating adipocytokines In non-diabetic and type 1 diabetic children: relationship to insulin therapy, glycaemic control and pubertal development. *Diabet Med.* 2006; 23: 660-665.
179. Ohashi K, Parker JL, Ouchi N, Higuchi A, Vita JA, Gokce N, Pedersen AA, Kalthoff C, Tullin S, Sams A, Summer R, Walsh K. Adiponectin promotes macrophage polarization toward an anti-inflammatory phenotype. *J Biol Chem.* 2010; 285(9): 6153-6160.
180. Pflieger C, Mortensen H, Hansen L, Herder C, Roep B, Hoey H, Aanstoot H, Kocova M, Schloot N. Association of IL-1ra and Adiponectin with C-peptide and remission in patients with type 1 diabetes. *Diabetes.* 2008; 57: 929-937.

181. Galler A, Gelbrich G, Kratzsch J. Elevated serum levels of adiponectin in children and adolescents with type 1 diabetes and the impact of age, gender, BMI and metabolic control: a longitudinal study. *Eur J Endocrinol.* 2007;157(4): 481-489.
182. El-Maksoud A, El Hefnawy M, Yahya S, Seoudi D, Ghaffar A, Kamal I. Early predictors of microvascular complications in type 1 diabetic patients. *Clin Biochem.* 2009; 42: 1401-1406.
183. Bideci A, Cinas P, Ezgu FS. Leptin levels in children with insulin dependent diabetes mellitus. *Turk J Pediatr.* 2002; 44 (3): 211-214.
184. Szalecki M. Does the kind of therapy have an influence on abnormalities of NPY-leptin axis in children with IDDM. *Horm Res.* 2007, 68.
185. Szalecki M, Pańkowska E, Mincewicz-Wysocka M, Klupa T, Janas R. Rola adiponektyny w cukrzycy typu 1 u dzieci. Wpływ stosowanej metody insulinoterapii. *Endokrynol Pediatr.* 2010; 9: 21-29.
186. American Diabetes Association: Management of dyslipidemia in children and adolescents with diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: 2194-2201.
187. Pać-Kożuchowska E, Szewczyk L, Witkowski D. Zachowanie się stężeń lipidów, lipoprotein i apolipoprotein w surowicy krwi u dzieci z cukrzycą typu 1. *Pediatr Endocrinol Diabet Metab.* 2002; 8: 23-27.
188. Suchacka-Bianga M, Deja G, Jarosz-Chobot P, Tendera-Małecka E. Ocena wybranych czynników ryzyka miażdżycy u dzieci z cukrzycą typu 1 i hipercholesterolemią. *Pediatr Endocrinol Diabet Metab.* 2006; 12,1: 25-30.
189. Orchard TJ, Forrest KYZ, Kuller LH, Becker DJ. Lipid and blood pressure treatment goals for type 1 diabetes: 10-year incidence data from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complication study. *Diabetes Care.* 2001; 24: 1053-1060.
190. Brandt A, Myśliwiec M, Balcerska A. Ocena zaburzeń w gospodarce lipidowej u dzieci z cukrzycą typu 1 w zależności od stopnia wyrównania metabolicznego choroby. *Pediatr Endocrinol Diabet Metab.* 2010; 16: 1: 49.

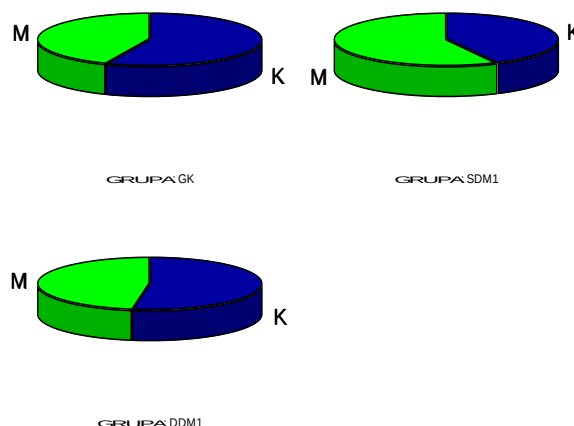
191. Jankowska A, Horodnicka Józwa A, Walczak M, Petriczko E. Ocena wybranych parametrów gospodarki lipidowej u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1. *Endokrynol Pediatr.* 2007; 1(18): 33-39.
192. Myśliwiec M, Zorena K, Balcerska A. Udział wybranych parametrów gospodarki lipidowej w rozwoju nefropatii cukrzycowej u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1. *Diabetol Prakt.* 2008; 9: 6: 241-245.
193. Lipińska A, Liszewska-Pfeifer D, Korczak D, Świtka E. Ocena stężenia w surowicy rozpuszczalnych form cząsteczek adhezyjnych u chorych z cukrzycą typu 1 powikłaną retinopatią. *Diabetol Pol.* 2006; 13(3-4): 135-139.
194. Głowińska-Olszewska B, Urban M, Peczyńska J, Koput A. Białko hsCRP u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab.* 2007, 13,2: 79-84.
195. Jenkins AJ, Lyons TJ, Zheng D, Otvos JD, Lackland DT et al. Lipoprotein in the DCCT/EDIC cohort: association with diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2003; 64: 817-828.
196. Myśliwiec M. Wartość prognostyczna markerów immunologicznych i biochemicznych we wczesnym etapie rozwoju nefropatii i retinopatii cukrzycowej u dzieci. Rozp. Hab. AM Gdańsk, 2008.
197. Karaguzel G, Ozdem S, Boz Adil, Bircan I, Akcurin S. Leptin levels and body composition in children and adolescents with type 1 diabetes. *Clinical Biochem.* 2006; 39: 788-793.
198. Luna R, Garcia-Mayor V, Lage M, Andrade M, Barreiro J, Pombo M, Dieguez Carlos. High serum leptin levels in children with type 1 diabetes mellitus: contribution of age, BMI, pubertal development and metabolic status. *Clin Endocrinol.* 1999; 51: 603-610.
199. Danne T, Kordonouri O, Hövener G, Weber B. Diabetic angiopathy in children. *Diabet Med.* 1997; 14: 1012-1025.
200. Yamauchi T, Kamon J, Waki H. The FAT-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med.* 2001; 7: 941-946.

-
201. Peczyńska J, Urban M, Głowińska B, Florys B. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab.* 2008; 14 (2): 77-81.
 202. Schalwijk CG, Chaturvedi N, Schram M. Adiponectin is inversely associated with renal function in type 1 diabetic patients. *J Endocrinol Metab.* 2006; 91: 129-135.
 203. Leth H, Andersen K, Frystyk J, Tarnow L, Rossing P, Parving HH, Flyvbjerg A. Elevated levels of high-molecular-weight in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93: 3186-3191.
 204. Saijo S, Nagata K, Nakano Y, Tobe T, Kobayashi Y. Inhibition by adiponectin of IL-8 production by human macrophages upon coculturing with late apoptotic cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 334: 1180– 1183.
 205. Lappas M, Permezel M, Rice GE. Leptin and adiponectin stimulate the release of proinflammatory cytokines and prostaglandins from human placenta and maternal adipose tissue via nuclear factor-kB, peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma, and extracellularly regulated kinase. *Endocrinology.* 2005; 146: 3334–3343.
 206. Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, Enrich B, Tilg H. Adiponectin induced the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes, *Biochem. Biophys Res Commun.* 2004; 324: 630– 635.
 207. Ohashi K, Parker JL, Ouchi N, Higuchi A, Vita JA, Gokce N, Pedersen AA, Kalthoff C, Tullin S, Sams A, Summer R, Walsh K. Adiponectin promotes macrophage polarization toward an anti-inflammatory phenotype *J Biol Chem.* 2010; 285(9): 6153-6160.
 208. Peelman F, Van Beneden K, Zabeau L, Iserentant H, Ulrichs P, Defeau D, Verhee A, Catteuw D, Elewaut D, Tavernier J. Mapping of the leptin binding sites and design of a leptin antagonist. *J Biol Chem.* 2004; 279 (39): 41038–41046.
 209. Wang M, Chen L, Clark G, Lee Y, Stevens R. Leptin therapy in insulin-deficient type I diabetes. *PNAS.* 2010; 107 (11): 4811-4819.

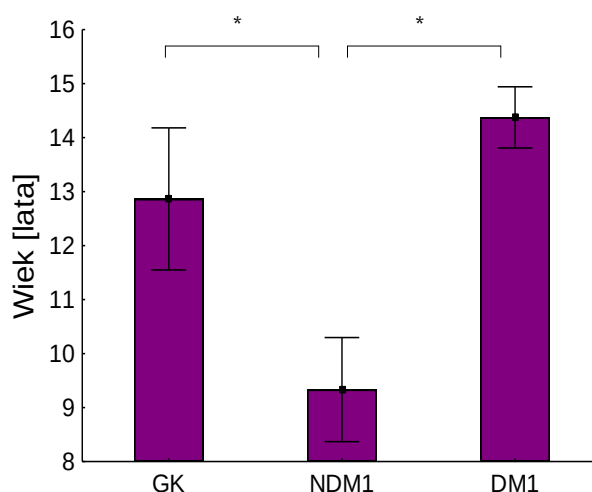
-
210. Okamoto Y, Arita Y, Nishida M. An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm Metab Res.* 2000; 32: 47-50.
 211. Yamamoto Y, Hirose H, Saito I. Correlation of the adipocytederived protein adiponectin with insulin resistance index and serum highdensity lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in Japanese population. *Clin Sci.* 2002; 103: 137-142.
 212. Zhang D, Efendic S, Brismar K, Gu H. Effect of MCF2L2, ADIPOQ and SOX2 genetic polymorphism on the development of nephropathy in type 1 diabetes mellitus. *BMC Medical Genetics.* 2010; 11:116.
 213. Garofalo C, Koda M, Cascio S, Sulkowska M, Kanczuga-Koda L, Golaszewska J, Russo A, Sulkowski S, Surmacz E. Increased expression of leptin and the leptin receptor in primary and metastatic breast cancer: possible role of obesity-related stimuli. *Clin Cancer Res.* 2006; 12: 1447-1453.
 214. Gorden P., Gavrilova O. The clinical uses of leptin. *Curr Opin Pharmacol.* 2003; 6: 655-659.
 215. La Cava A, Matarese G. The weight of leptin in immunity. *Nature Reviews Immunology.* 2004; 4, 371-379.
 216. McMinn JE, Rudolph L, Leibel MD. Lessons from models of monogenic and polygenic obesity in rodents. 2003, rozdz 6.
 217. Otto-Buczkowska E. Cukrzyca w populacji wieku rozwojowego- co nowego? wyd. Cornetis. 2009.
 218. Tree TI, Peakman M. Autoreactive T cells in human type 1 diabetes. *Endocrinol Metabol Clin North Am.* 2004; 33: 113-133.
 219. Silverstein J, Klingensmith G, Copeland K. Care of children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2005; 25: 859-864.
 220. Silink M. Childhood Diabetes: A Global Perspective. *Pediatric Diabetes.* 2005; 6, supl. 3.

-
221. Saraheimo M, Forsblom C., Fagerud J. Serum adiponectin is increased in type 1 diabetic subjects with nephropathy. *Diabetes Care*. 2005; 28:1410-1414.
222. Heilman K, Zilmer M, Zilmer K, Kool P, Tillmann V. Elevated plasma adiponectin and decreased plasma homocysteine and asymmetric dimethylarginine in children with type 1 diabetes. *Scand J Clin Lab Invest*. 2009; 69(1): 85-91.
223. Hannonen R, Tupola S, Ahonen T, Riikonen R. Neurocognitive functioning in children with type 1 diabetes with and without episodes of severe hypoglycemia. *Dev Med Child Neurol*. 2003; 45: 262-268.
224. Martos-Moreno GA, Barrios V, Soriano-Guillén L, Argente J. Relationship between adiponectin levels, acylated ghrelin levels, and short-term body mass index changes in children with diabetes mellitus type 1 at diagnosis and after insulin therapy. *Eur J Endocrinol*. 2006; 155(5): 757-61.
225. Barnes MM, Curran-Everet D, Hamman RF, Maahs D, Mayer-Davis EJ, Agostino RB, West N, Dabelea D. Determinants of adiponectin levels in young people with type 1 diabetes. *Diab. Medic*. 2008; 25: 365-369.
226. Lawlor DA, Davey Smith G, Ebrahim S, Thompson C, Sattar N. Plasma adiponectin levels are associated with insulin resistance, but do not predict future risk of coronary heart disease in women. *JCEM*. 2005; 90: 5677-5683.
227. Frystyk J, Tarnow L, Hansen T, Parving HH, Flyvbjerg A. Increased serum adiponectin levels in type 1 diabetic patients with microvascular complications. *Diabetologia*. 2005; 48: 1911-1918.
228. Szczeklik A. Choroby wewnętrzne. Zapobieganie chorobom układu krążenia. Kraków 2005 ; 123-135.
229. Myers SE, Albert SG, Haas MJ, Clifton D, Mooradian AD. Pubertal changes in serum leptin levels in adolescents with type 1 diabetes mellitus: a controlled longitudinal study. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2004; 17(12): 1653-1662.
230. Pambianco G, Costacou T, Ellis D, Becker DJ, Klein R, Orchard TJ. The 30-years natural history of type 1 diabetes complications: the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study experience. *Diabetes*. 2006;55(5): 1463-1469.

X. ZAŁĄCZNIK



Ryc. IX.1. Rozkład płci w grupie kontrolnej (GK), w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) oraz w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1). (K- płeć żeńska, M- płeć męska).



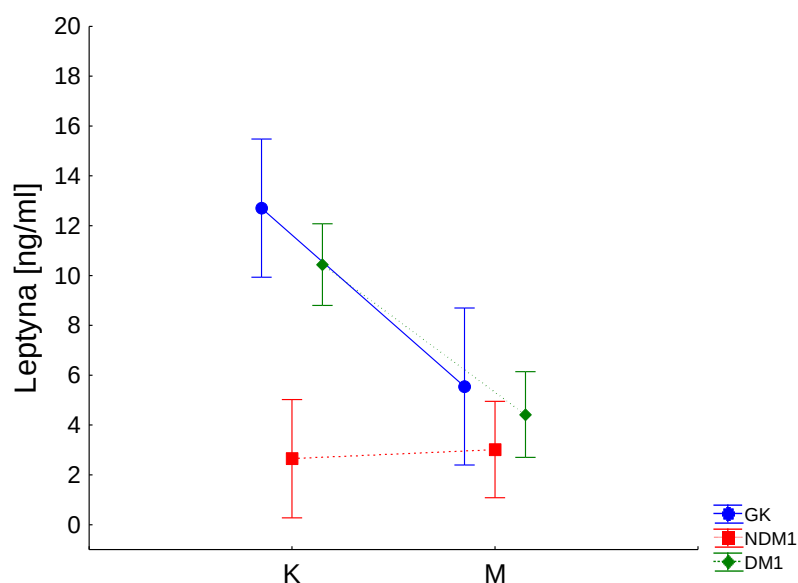
Ryc. IX.2. Wiek w grupie kontrolnej (GK), w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (NDM1) oraz w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 (DM1) jako średnie i 0,95 przedział ufności. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p < 0,05$) oznaczono symbolem „* ”.

Parametr	Czas trwania choroby			p
	<5 lat	5-10lat	>10lat	
Leptyna	5,13±4,26	7,73±6,46	8,48±7,37	p=0,04*
Adiponektyna	15,42±7,86	15,92±8,77	16,39±9,28	p=0,92

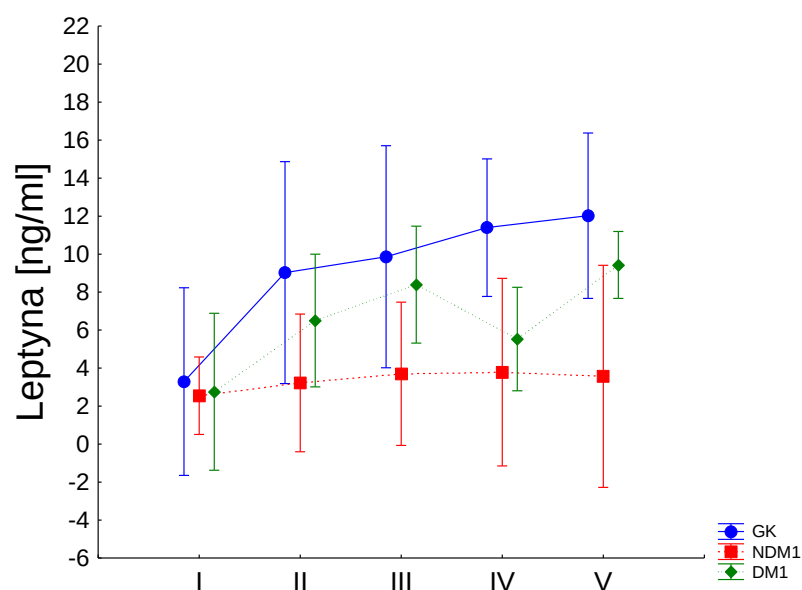
Tab. IX.1. Poziom leptyny i adiponektyny w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 w zależności od czasu trwania choroby. Wyniki przedstawiono jako średnie $\pm$ SD. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p<0,05$) oznaczono symbolem „*”.

Grupa	Parametr	WIEK			p
		<12 lat	12- 15 lat	>15 lat	
NDM1	Leptyna	3,04±3,84	2,50±2,13	1,17±0,73	p=0,38
	Adiponektyna	14,05±6,90	10,46±5,83	10,75±5,77	p=0,1
DM1	Leptyna	5,32±5,06	7,05±6,83	9,46±8,57	p=0,04*
	Adiponektyna	14,74±7,11	15,61±6,14	17,34±9,66	p=0,1

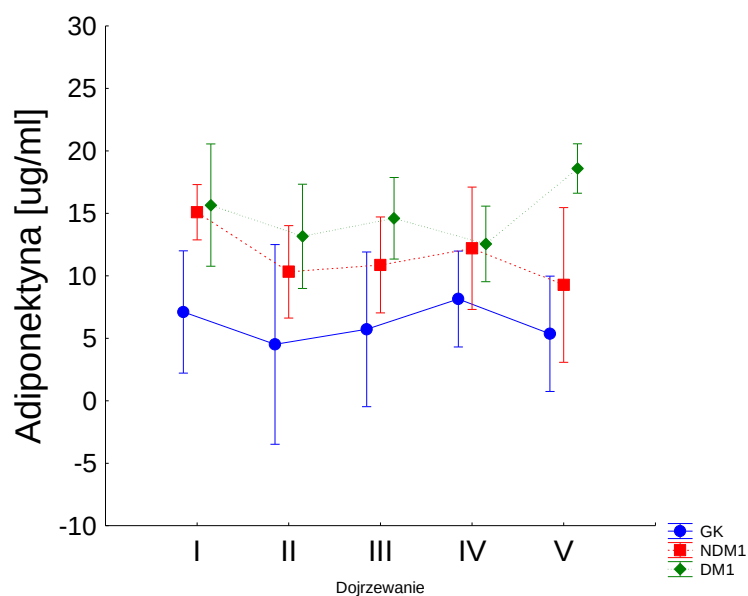
Tab. IX.2. Poziom leptyny i adiponektyny w grupie pacjentów z nowo rozpoznaną i długotrwałą cukrzycą typu 1 w zależności od wieku. Wyniki przedstawiono jako średnie $\pm$ SD. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie ($p<0,05$) oznaczono symbolem „*”.



Ryc. IX.3. Poziom leptyny w poszczególnych grupach w zależności od płci ($p=0,002$). Wyniki przedstawiono jako średnie, pionowe słupki oznaczają 0,95 przedział ufności.



Ryc. IX.4. Poziom leptyny w poszczególnych grupach w zależności od stadium dojrzewania w skali Tannera ($p=0,51$). Wyniki przedstawiono jako średnie, pionowe słupki oznaczają 0,95 przedział ufności.



Ryc. IX.5. Poziom adiponektyny w poszczególnych grupach w zależności od stadium dojrzewania w skali Tannera ($p=0,23$). Wyniki przedstawiono jako średnie, pionowe słupki oznaczają 0,95 przedział ufności.

Praca finansowana ze środków GUM - praca W-167 oraz ze środków własnych.